

FERNANDO DOS PASSOS

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NOVOS
COMPLEXOS DE COBRE(II) E ZINCO(II) DE
RELEVÂNCIA BIOINORGÂNICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Departamento de Química, Centro de Ciências
Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de
Santa Catarina, como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em Química

Orientador: Prof. Dr. Ademir Neves

Florianópolis

2008

*Dedico este trabalho à Camilla, minha amada esposa,
e aos meus pais Terezinha e Osmar.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por não fazer minhas vontades, mas por me proporcionar infinitamente mais do que eu poderia pedir ou sonhar.

À camilla, pelo amor e companheirismo ao longo destes anos. Por entender sem concordar e muitas vezes concordar sem entender, por estar sempre ao meu lado dividindo alegrias e frustrações. Obrigado por tornar minha vida mais feliz.

Aos meus pais, pelo amor incondicional, pelos ensinamentos, pela confiança e apoio, por respeitar e acreditar nos meus sonhos. Aos meus irmãos, por tudo que passamos juntos, pelas diferenças que me fizeram crescer e entender melhor as pessoas. Por sermos, acima e apesar de tudo, uma família.

Ao prof. Dr. Ademir Neves, pelas idéias e incentivos, pela orientação, pelo respeito e por enxergar além da química.

À Rosely, pela contribuição na minha iniciação científica e neste trabalho, pela paciência e dedicação. Obrigado pelos puxões de orelha, invariavelmente merecidos.

Ao Ademir dos Anjos, pela colaboração e sugestões fundamentais no início deste trabalho. Ao Bernardo, Fernando Xavier, Geovana, Rafael, Renata e Tiago pelas dicas e correções, pelo apoio e amizade.

Aos amigos do LABINC: aos que já seguiram seus caminhos, mas deixaram suas contribuições e muita saudade; aos que permanecem e tornam o trabalho mais alegre, pelas brincadeiras, pelos fóruns, pelas idéias e também pelo café. A todos, muito obrigado.

Aos amigos de Governador Celso Ramos e da IPJ, por compartilharem sonhos e ideais, pelos conselhos, pela confiança, pela torcida e pela disposição em todos os momentos.

Aos colegas do DPRF, pelas trocas de serviço, pela confiança e pela amizade que tornaram mais fácil essa dupla jornada.

Aos professores, por me ajudarem a descobrir um pouquinho dessa ciência e me incitarem a buscar cada vez mais. Ao departamento de química da UFSC pelo apoio institucional e ao CNPq pelo tempo de bolsa concedida.

Pela fé entendemos que o universo foi formado pela palavra de Deus,
de modo que aquilo que se vê não foi feito do que é visível.

Hebreus 11.3 (NVI)

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	3
SUMÁRIO.....	5
LISTA DE FIGURAS.....	7
LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	9
RESUMO	10
1 INTRODUÇÃO	11
1.1 METALOENZIMAS DE COBRE	13
1.2 COMPLEXOS MODELOS METALO-FENOXIL E GAO	16
2 OBJETIVOS	20
3 EXPERIMENTAL.....	21
3.1 MATERIAIS, MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO	21
3.1.1 MATERIAIS	21
3.1.2 MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO	21
3.2 SÍNTESE DO LIGANTE	24
3.2.1 SÍNTESE DOS PRECURSORES.....	24
3.2.2 SÍNTESE DO LIGANTE 2,4-DI-TERC-BUTIL-6-((METIL-1,4-DIAZEPAN-6-ILIMINO)METIL)FENOL - Hdtbaaz.....	27
3.2.3 SÍNTESE DO COMPLEXO Cu(dtbaaz)(OAc)	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LIGANTE Hdtbaaz	30
4.1.1 INFRAVERMELHO	30
4.1.2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO RMN ¹ H....	30
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO Cu(dtbaaz)(OAc).....	31
4.2.1 INFRAVERMELHO	31
4.2.2 ESTRUTURA CRISTALINA DE RAIOS X.....	32
4.2.3 ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA	35
4.2.4 RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA	36
4.2.5 ELETROQUÍMICA.....	37
4.2.6 COULOMETRIA DO COMPLEXO E FORMAÇÃO DO RADICAL	38
4.3 FORMAÇÃO DO COMPLEXO Zn(btbf ₂).....	40
4.3.1 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X.....	40

4.3.2	ELETROQUÍMICA.....	42
4.3.3	ESPECTRO ELETRÔNICO UV/VIS.....	43
5	CONCLUSÕES	45
6	PERSPECTIVAS.....	46
7	REFERÊNCIAS.....	47

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - FUNÇÕES BIOLÓGICAS DE METALOENZIMAS DE COBRE.....	13
FIGURA 2 - ESTRUTURA DA ENZIMA GALACTOSE OXIDASE.....	14
FIGURA 3 DESENHO ESQUEMÁTICO DO SÍTIO ATIVO DA GAO CARACTERIZADO CRISTALOGRAFICAMENTE (X = H ₂ O – PH 7,0 OU ACETATO PH 4,5).....	15
FIGURA 4 - MECANISMO PROPOSTO PARA A GALACTOSE OXIDASE.....	16
FIGURA 5 - LIGANTES BASEADOS NO SALEN.....	17
FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO GERAL DOS LIGANTES BASEADOS NA UNIDADE TACN COM UM (A), DOIS (B) E TRÊS (C) GRUPOS FENÓLICOS (R ₁ = R ₂ = R ₃ = SUBSTITUINTES ALQUILA).	18
FIGURA 7 – ESQUEMA GERAL DE SÍNTESE DO LIGANTE HDTBAAZ.....	24
FIGURA 8 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO PRECURSOR AAZ EM KBR.....	26
FIGURA 9 – ESPECTRO DE RMN ¹ H DO PRECURSOR AAZ EM CDCL ₃	27
FIGURA 10 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO LIGANTE HDTBAAZ EM KBR.....	28
FIGURA 11 – ESPECTRO DE RMN ¹ H DO LIGANTE HDTBAAZ EM CDCL ₃	28
FIGURA 12 – ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO COMPLEXO CU(DTBAAZ)(OAC) EM PASTILHA DE KBR	29
FIGURA 13 ESPECTRO DO LIGANTE HDTBAAZ EM 5, 15 E 60 MINUTOS, (PRETO), (AZUL) E (VERMELHO) RESPECTIVAMENTE. DESLOCAMENTO QUÍMICO EM 8,54 PPM (IMINA) E 9,87 PPM (ALDEIDO) COM OS PICOS AMPLIADOS.....	31
FIGURA 14 – DIAGRAMA ORTEP DO COMPLEXO CU(DTBAAZ)(OAC) COM ELIPSÓIDES MOSTRADOS EM 40% DE PROBABILIDADE.....	33
FIGURA 15 - ESPECTRO ELETRÔNICO DO COMPLEXO CU ^{II} (DTBAAZ).OAC EM CH ₃ CN (1,5 X 10 ⁻⁴ MOLL ⁻¹) CUBETA DE VIDRO, COM CAMINHO ÓTICO DE 1 CM. INSERÇÃO: AMPLIAÇÃO DA BANDA EM 617 NM REFERENTE À TRANSIÇÃO DO ÍON CU ^{II} (1,0 X 10 ⁻³ MOLL ⁻¹).	35
FIGURA 16 - ESPECTROS DE RPE EM ESTADO SÓLIDO E SOLUÇÃO DO COMPLEXO CU(DTBAAZ).OAC.....	37
FIGURA 17 - VOLTAMOGRAMA CÍCLICO DO COMPLEXO CU(DTBAAZ)(OAC), EM CH ₂ CL ₂ , [TBA(PF ₆)] (0,1 MOLL ⁻¹) E FERROCENO COMO PADRÃO INTERNO. ELETRODOS: TRABALHO-PLATINA, REFERÊNCIA- AG/AG ⁺ ; AUXILIAR-PLATINA.VELOCIDADE DE VARREDURA 300 MV.S ⁻¹ . O VOLTAMOGRAMA NÃO APRESENTA O PAR REDOX FC ⁺ /FC, QUE FOI FEITO SEPARADAMENTE (E _{1/2} = 446 MV VS. AG/AG ⁺).	38
FIGURA 18 - ESPECTROS UV/VIS OBTIDOS DURANTE A COULOUOMETRIA. A BANDA DE TRANSFERÊNCIA DE CARGA DO COMPLEXO DIMINUI ENQUANTO AS DE TRANSFERÊNCIA INTERNA DO LIGANTE AUMENTAM.....	39
FIGURA 19 - DIAGRAMA ORTEP DO COMPLEXO ZN(BTBFD) ₂ COM ELIPSÓIDES MOSTRADOS EM 40% DE PROBABILIDADE.....	40
FIGURA 20 - VOLTAMETRIA CÍCLICA DO COMPLEXO ZN(BTBFD) ₂ EM CH ₂ CL ₂ , 0,1 MOLL ⁻¹ À TEMPERATURA AMBIENTE.....	42
FIGURA 21 - ESPECTRO UV/VIS DO COMPLEXO ZN(BTBFD) ₂ EM CH ₂ CL ₂	43

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A UNIÃO INTERNACIONAL DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR.....	12
TABELA 2 – DADOS CRISTALOGRÁFICOS SELECIONADOS PARA O COMPLEXO $\text{Cu}(\text{DTBAAZ})(\text{OAC})$	33
TABELA 3 - COMPRIMENTOS (Å) E ÂNGULOS DE LIGAÇÃO (°) SELECIONADOS PARA AS DUAS UNIDADES DA CELA UNITÁRIA DO COMPLEXO $\text{Cu}(\text{DTBAAZ})(\text{OAC})$	34
TABELA 4 – DADOS CRISTALOGRÁFICOS SELECIONADOS PAR O COMPLEXO $\text{Zn}(\text{BTBFD})_2$...	41
TABELA 5 - COMPRIMENTOS (Å) E ÂNGULOS DE LIGAÇÃO (°) SELECIONADOS PARA AS DUAS UNIDADES DA CELA UNITÁRIA DO COMPLEXO $\text{Zn}(\text{BTBFD})_2$	41
TABELA 6 – DADOS DA ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA PARA O COMPLEXO $\text{Zn}(\text{BTBFD})_2$...	43

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

btbfd	2,2'-metilenobis(6- <i>terc</i> -butil-4-metilenofenol)
Hdtbaaz	2,4-di- <i>terc</i> -butil-6-((metil-1,4-diazepan-6-ilimino)metil)fenol
Hdtba	3,5-di- <i>terc</i> -butil-2-hidroxi-benzaldeído
aaz	6-Amino-6-metilperhidro-1,4-diazepina
Å	Ângstrons ($1 \text{ Å} = 10^{-8} \text{ cm}$)
ϵ	Coefficiente de absorvidade molar
δ	Deformação angular (IV)
δ_{H}	Deslocamento químico do hidrogênio (RMN ^1H)
UV-Vis	Espectroscopia na região do ultravioleta visível
IV	Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho
ν	Estiramento (IV)
EtOH	Etanol
GAO	Galactose Oxidase
Salen	<i>N,N'</i> -alquil-bis(salicilimina)
$E_{1/2}$	Potencial Redox
^1H RMN	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RPE	Ressonância Paramagnética Eletrônica
tacn	Triazaciclononano
UIBBM	União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular

RESUMO

Dentre as metaloenzimas de cobre pode-se citar a galactose oxidase, responsável pela oxidação de uma gama de álcoois primários a aldeídos com a concomitante redução de oxigênio molecular a peróxido de hidrogênio. Diversos complexos metálicos que visam modelar estrutural e/ou funcionalmente essas metaloenzimas têm sido estudados nas últimas décadas, com o objetivo de elucidar o seu modo de ação.

Neste trabalho foi sintetizado e caracterizado via técnicas espectroscópicas e estudos eletroquímicos um novo complexo de cobre(II), empregando-se o novo ligante: 2,4-di-terc-butil-6-((metil-1,4-diazepan-6-ilimino)metil)fenol – Hdtbaaz, com o objetivo de correlacionar este com o sítio ativo da galactose oxidase.

Visando observar a formação de um radical fenoxil foi realizada a eletrólise do complexo de cobre, acompanhada por espectroscopia eletrônica. Esse estudo mostra que o complexo se decompõe eletroliticamente, não sendo possível a estabilização de um radical fenoxil.

Tentativas de sintetizar um complexo de zinco análogo ao de cobre resultaram na formação de um complexo organometálico mononuclear biradicalar de zinco. Este complexo teve sua estrutura cristalina resolvida por difratometria de raios X. Medidas eletroquímicas e espectroscopia UV-vis também foram empregadas na caracterização do mesmo.

1 INTRODUÇÃO

A química bioinorgânica (campo da ciência relativamente recente e altamente interdisciplinar) tem por finalidade o estudo do papel dos metais dentro do contexto dos sistemas vivos. Alguns destes metais desempenham papéis não bem definidos outros apresentam efeitos deletérios. Tem-se descoberto, no entanto, que um grande número de metais são indispensáveis para a manutenção da vida.

Os elementos químicos presentes nos seres vivos são considerados essenciais à vida quando sua falta provoca uma disfunção ou debilita alguma função orgânica. Entre esses elementos estão os metais Na, K, Mg, Ca, Fe, Cu e Zn. Por exemplo, os elementos sódio e potássio estão associados ao balanço osmótico em membranas celulares. O ferro está presente na hemoglobina e é responsável pelo transporte de oxigênio. O molibdênio é essencial nas plantas em geral por ter um papel importante na fixação de nitrogênio.¹

Outros elementos são necessários em concentrações mínimas (chamados de elementos traço) e também são importantes para o bom funcionamento do organismo. Os metais com concentração traço mais importantes são V, Cr, Mn, Co, Ni, Mo e Sn. A função biológica do manganês, por exemplo, está associada à fotossíntese.¹

Metais também podem ser utilizados como sondas ou fármacos, como a platina (na forma de cisplatina, $\text{Cl}_2\text{Pt}(\text{NH}_3)_2$) que é utilizada no tratamento de diversas neoplasias, ou como o gadolínio, usado como agente de contraste em ressonância magnética.^{1,2}

Os principais papéis dos íons metálicos nos sistemas biológicos podem ser descritos como: estrutural, ajudando na estabilização da estrutura da proteína; e funcional, sendo diretamente envolvidos na reatividade das biomoléculas.³

Metaloenzimas são enzimas que possuem um ou mais íons metálicos em sua estrutura, seja ligado diretamente à cadeia polipeptídica ou inseridos em uma molécula não proteica covalentemente ligada à cadeia polipeptídica. A grande complexidade estrutural das metaloenzimas, bem como a alta massa molar, tem sido um entrave na obtenção de monocristais adequados à resolução de sua estrutura cristalina e na elucidação da sua função e propriedades. Assim, complexos

metálicos são extremamente úteis na obtenção de informações estruturais e dos mecanismos envolvidos nas reações que são inacessíveis para estudos na metaloenzima diretamente, pois no sistema natural um número limitado de modificações pode ser efetuado sem romper sua estrutura e/ ou sua função. Entretanto os compostos modelos não reproduzem rigorosamente a funcionalidade e a especificidade dos sistemas naturais, pois a contribuição de todos os componentes da enzima não pode ser subestimada.

As enzimas são altamente específicas sendo internacionalmente classificadas de acordo com as reações por elas catalisadas.

Tabela 1 - Classificação de acordo com a UIBBM.⁴

Enzimas	Reações que catalisam
Oxirredutases	Reações de transferência de elétrons;
Transferases	Reações de transferências de grupos aldeídicos, cetônicos, acila, fosforila etc.;
Hidrolases	Reações de hidrólise;
Liasas	Adição ou remoção de grupos a duplas ligações;
Isomerases	Reações de transferência de grupos dentro de moléculas produzindo formas isoméricas;
Ligases	Reação de formação de ligações C-C, C-S, C-O e C-N por reações de condensação acopladas a clivagem de ATP.

1.1 METALOENZIMAS DE COBRE

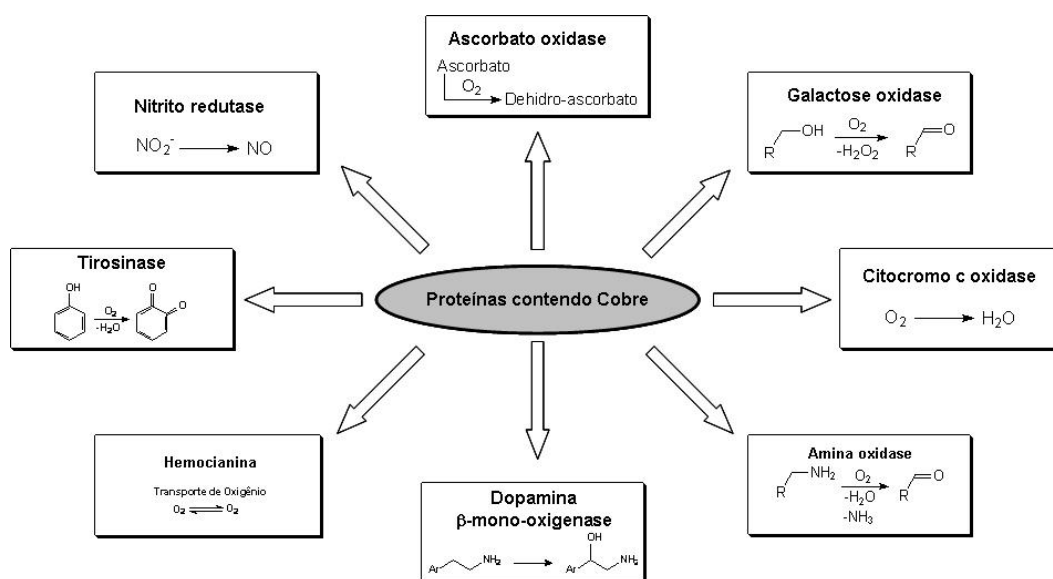


Figura 1 - Funções biológicas de metaloenzimas de cobre.⁵

O estudo e a modelagem do sítio ativo de metaloenzimas de cobre tem sido campo de grande interesse da comunidade científica. Enzimas de cobre estão principalmente envolvidas na catálise de reações em uma ampla faixa de processos biológicos, tal como a transferência de elétrons, transporte de oxigênio molecular e oxidação de vários biosubstratos (Figura 1). Essas enzimas são encontradas em plantas, insetos e mamíferos e têm sido divididas em sete classes de acordo com a estrutura do sítio ativo, como sendo do tipo-I, tipo-II, tipo-III, multicobre, CuA, CuB, e CuZ clusters.

Os centros de cobre do tipo I, conhecidos por centros azuis de cobre, são encontrados em proteínas responsáveis pela transferência reversível de elétrons. A intensa cor azul desse tipo de proteína se deve a uma transferência de carga do ligante tiolato para o centro de cobre(II). As proteínas do tipo I têm baixa massa molar e são divididas em sub-grupos como: azurinas, pseudo-azurinas, plastocianinas, dentre outros.

Proteínas do tipo II de cobre, ou não azuis, são encontradas em oxidases, como a galactose oxidase, e em oxigenases, como a dopamina-β-monooxigenase.

Os centros de cobre nas proteínas do tipo II são espectroscopicamente consistentes com geometria quadrado planar ou piramidal. O centro metálico é ativo no RPE com um sinal característico de Cobre(II).

Diferentemente a esses dois tipos de centros, o tipo III contém dois átomos de cobre. Proteínas com centros do tipo III atuam ou como enzimas oxigenase/oxidase (catecol oxidase, por exemplo) ou como proteínas de transporte de oxigênio molecular (hemocianina, por exemplo).¹ Além desses três tipos de proteínas de cobre ainda há as multi-cobre oxidases com outras estequiometrias de centros metálicos.

A Galactose oxidase (GAO) é uma enzima extracelular secretada por fungos, que catalisa a oxidação de álcoois primários por oxigênio molecular resultando no aldeído correspondente e peróxido de hidrogênio.^{6,7,8} A GAO exibe uma ampla especificidade para álcoois primários. Estudos recentes mostraram que além de catalisarem oxidação de álcoois, a enzima também converte aldeídos aos correspondentes carboxilatos.⁹

A estrutura, a partir da enzima nativa, da galactose oxidase (Figura 2) foi determinada por difratometria de raios X em três formas distintas, com acetato (pH 4,5), água (pH 7,0) e a forma apo (sem o centro metálico).



Figura 2 - Estrutura da enzima Galactose oxidase.

A enzima possui um centro mononuclear de cobre(II) em uma geometria de pirâmide de base quadrada. As posições equatoriais são ocupadas por dois átomos de nitrogênio dos resíduos de histidina (His501, His496), um oxigênio da tirosina modificada Tir 272 e ainda um ânion acetato exógeno (pH 4,5) ou uma molécula de água (pH7,0). A posição apical é ocupada pelo resíduo protonado Tir195. Apresenta-se na Figura 3 um desenho esquemático do sítio ativo da galactose oxidase.

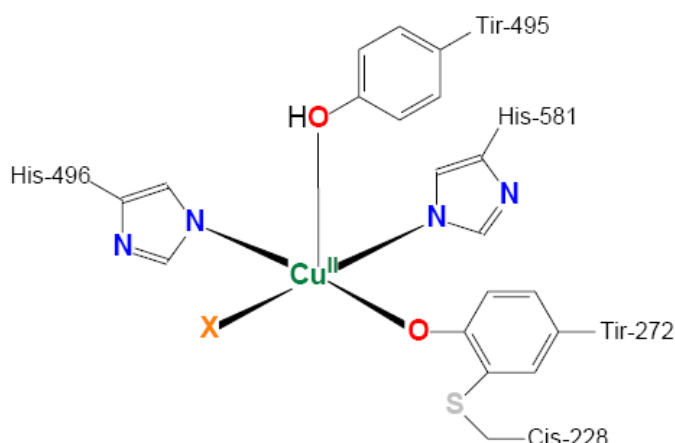


Figura 3 Desenho esquemático do sítio ativo da GAO caracterizado cristalograficamente (X = H₂O – pH 7,0 ou Acetato pH 4,5).¹⁰

Com base na caracterização e estudo das propriedades estruturais e químicas de compostos modelos, muito se tem inferido acerca das propriedades da galactose oxidase.

No mecanismo proposto por Gamez⁵ e colaboradores, para a galactose oxidase, o álcool primário coordena-se à espécie ativa A (Figura 4), levando ao radical metal-fenoxil B. Esta espécie abstrai um próton do substrato pela tirosina axial, seguida da rápida transferência de elétrons intramolecular do ânion radical intermediário com a redução do CuII para CuI. A espécie C reage com oxigênio molecular para formar o complexo hidroperoxo CuII D com a perda do aldeído. Finalmente, peróxido de hidrogênio é liberado e assim o ciclo catalítico é reiniciado.

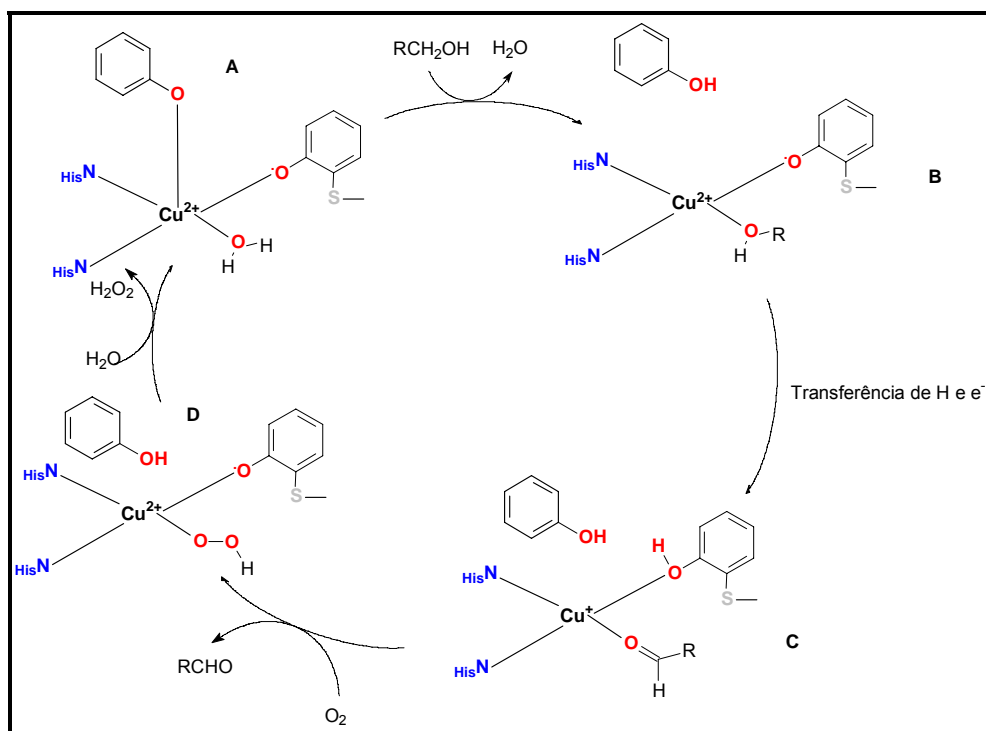


Figura 4 - Mecanismo proposto para a galactose oxidase.

1.2 COMPLEXOS MODELOS METALO-FENOXIL E GAO

Os radicais livres estão presentes em diversos processos biológicos, geralmente associados com enzimas que fazem uso de sua eficiente reatividade química, por exemplo, na ativação de ligações, em rearranjos moleculares e em catálises. Historicamente o foco dos estudos dos radicais livres sempre esteve relacionado com seus efeitos nocivos. Atualmente, no entanto, se reconhece que os mesmos também desempenham um importante papel em muitos processos essenciais à vida como a replicação do DNA, respiração e fotossíntese.¹¹

Diversos complexos envolvendo formas fenólicas coordenados com metais bivalentes ou mesmo trivalentes têm sido reportadas como modelos estruturais ou funcionais da galactose oxidase. Estes estudos forneceram muitas informações acerca das propriedades de radicais fenoxil coordenados.

A descoberta da presença do radical Cu^{II} -fenoxil na galactose oxidase estimulou a incorporação desta unidade em compostos de coordenação. Para que

radicais fenoxil existam em solução, as posições *orto* e *para*-fenol devem ser bloqueadas por grupos que ofereçam proteção ou ressonância de estabilização.¹²

Durante a última década muitos estudos foram realizados para incorporar tais modificações nos fenóis dos ligantes, levando ao isolamento de complexos que são capazes de modelar (funcionalmente ou estruturalmente) o sítio ativo da galactose oxidase.¹³

Um grande número de complexos de cobre(II) com ligantes baseados em unidades como o N,N'-alquil-bis(salicilimina) (salen) e o 1,4,7-triazaciclononano (tacn) têm sido descrito. A presença, nesses ligantes de grupos substituintes volumosos nas posições *orto* e *para* de cada fenol previne a formação de dímeros de complexos e estabilizam os radicais fenoxil.^{7,14,15}

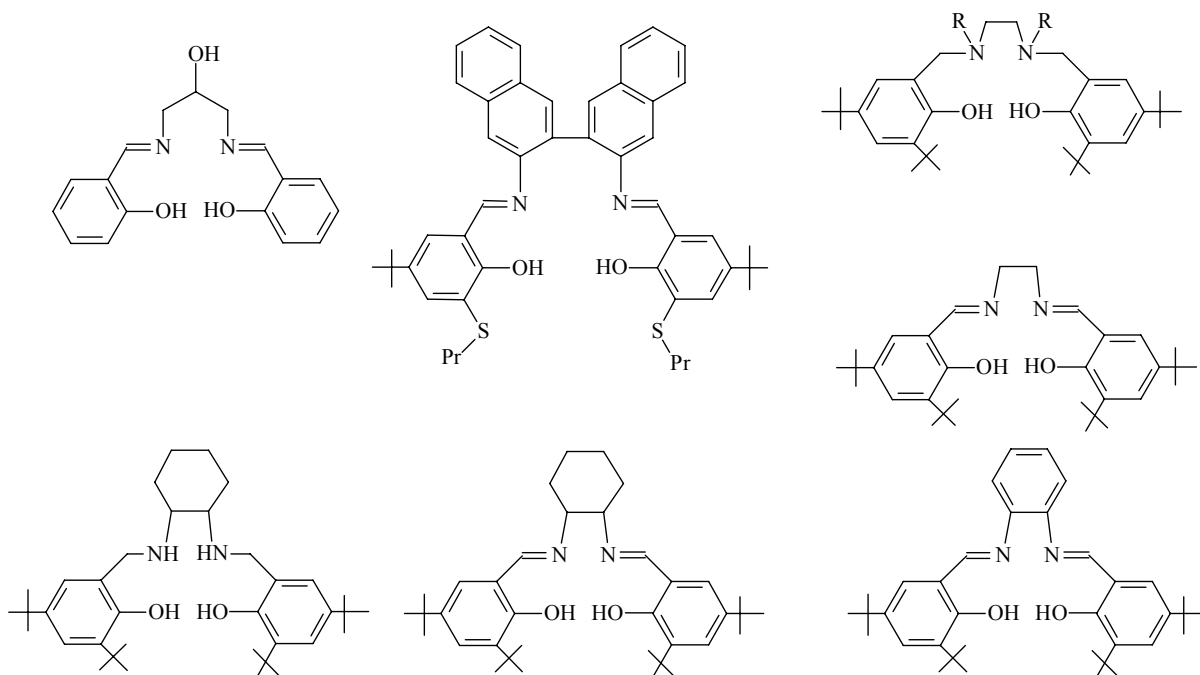


Figura 5 - Ligantes baseados no salen.¹³

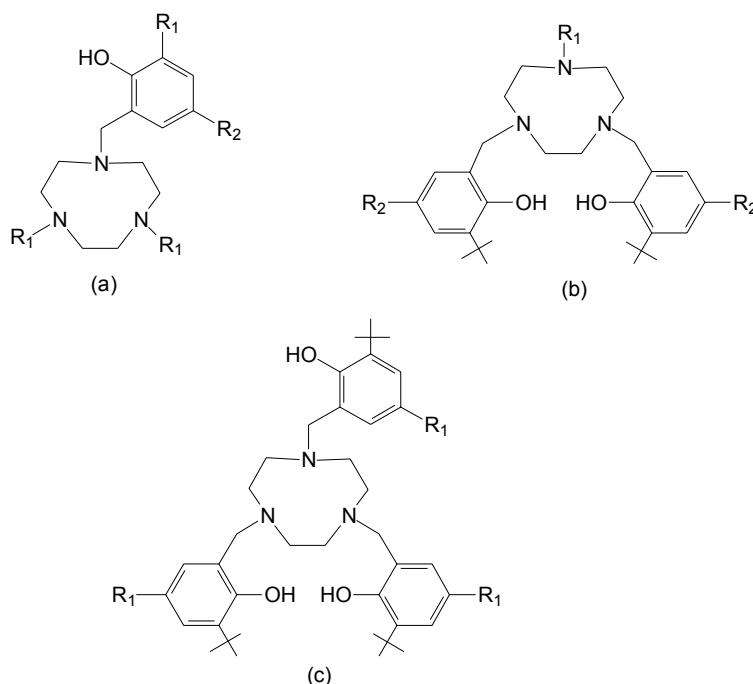


Figura 6 – Representação geral dos ligantes baseados na unidade tacn com um (a), dois (b) e três (c) grupos fenólicos ($R_1 = R_2 = R_3 =$ substituintes alquila).

Com o objetivo de obter modelos sintéticos semelhantes ao sítio ativo da galactose oxidase, esforços têm sido realizados para preparar complexos com uma ligação axial oxigênio fenolato – cobre(II) como ocorre no sítio desta enzima.

Uma estratégia adotada no estudo de compostos modelos e na investigação de propriedades do radical fenoxil é a obtenção de complexos de zinco(II) análogos aos obtidos a partir do íon cobre(II). O zinco(II) é largamente encontrado em metaloenzimas devido principalmente a seis características: 1) mais disponível em relação ao Ni, Cd, Fe e Cu; 2) é complexado mais fortemente que o MnII e o FeII; 3) troca mais facilmente de ligante que o NiII e MgII; 4) apresenta NOX estável comparado com CuII, FeII, MnII; 5) origina geometrias de coordenação mais flexíveis do que NiII, MgII e 6) por ser um bom ácido de Lewis entre os metais(II) perdendo apenas para o CuII.¹⁶

Neste trabalho descrevem-se a síntese e a caracterização, por infravermelho, espectroscopia eletrônica, voltametria cíclica e espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica, de um novo composto de coordenação de cobre(II). Um novo complexo mononuclear biradical de zinco também é sintetizado e caracterizado por voltametria cíclica e espectroscopia eletrônica. O estudo destes compostos tem

o objetivo de contribuir para obtenção de complexos-modelo para a galactose oxidase e auxiliar no entendimento do papel dos radicais livres nos sistemas biológicos.

2 OBJETIVOS

- Síntese e Caracterização por infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio de um novo ligante N,O-doador, contendo um grupo fenólico, a partir da unidade 6-Amino-6-metilperhidro-1,4-diazepina (aaz).
- Síntese e caracterização por técnicas analíticas tais como difratometria de raios X, espectroscopias UV-Vis, infravermelho e ressonância paramagnética eletrônica, e eletroquímica de um novo complexo de cobre(II) a partir do ligante N,O-doador obtido.
- Obtenção, identificação e estudo das propriedades radicalares de um novo complexo de zinco(II) a partir do ligante sintetizado.

3 EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS, MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.1.1 MATERIAIS

Os seguintes reagentes e solventes utilizados foram comprados de fontes comerciais e utilizados sem purificação prévia: benzaldeído, borohidreto de sódio, nitroetano, *p*-formaldeído, etilenodiamina, etanol, diclorometano, bicarbonato de sódio, sulfato de sódio anidro, paládio/carbono 10%, metanol, 3,5-di-*terc*-butil-2-hidroxi-benzaldeído, acetato de cobre(II), acetato de zinco(II), diclorometano UV/HPLC, acetonitrila UV/HPLC, KBr de grau espectroscópico.

3.1.2 MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

3.1.2.1 Espectroscopia no infravermelho (IV)

Os espectros no infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro FTIR – 2000, Perkin Elmer, na região de 4500 a 450 cm^{-1} . As amostras foram preparadas por dispersão em KBr de grau espectroscópico e prensadas (~10 toneladas), formando pastilhas com cerca de 1 cm de diâmetro e 0,5 mm de espessura. Estas pastilhas foram introduzidas no caminho óptico do equipamento para leitura do percentual de transmitância (%T). As análises foram realizadas na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC.

3.1.2.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio RMN ^1H

Os espectros de RMN ^1H foram obtidos em um espectrofotômetro Varian-FT 400 MHz, na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. Os deslocamentos químicos de hidrogênio foram registrados em ppm utilizando como referência interna tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,00$ ppm) e clorofórmio deuterado como solvente.

3.1.2.3 Espectroscopia eletrônica (UV-Vis)

Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta e visível foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo Lambda-19, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. As análises foram realizadas utilizando-se solventes de grau espectroscópico e cubetas de vidro com capacidade para 4 mL e 1 cm de caminho óptico.

3.1.2.4 Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica – RPE

Os experimentos de RPE, em banda X, foram obtidos em soluções congeladas de diclorometano com grau espectroscópico, à temperatura de nitrogênio líquido (77K), e de cristais à temperatura ambiente. Os dados foram obtidos em um espectrofotômetro Bruker ESP 300E, no LabEPR do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, pelo Prof. Dr. Antônio Sálvio Mangrich. Os espectros foram simulados utilizando-se o programa Simfonia¹⁷, e os dados tratados com o programa WIN-EPR.¹⁷

3.1.2.5 Eletroquímica

O comportamento redox dos complexos de cobre(II) e zinco(II) foi investigado por voltametria cíclica em um potenciostato-galvanostato BAS (Bioanalytical Systems, Inc.) modelo Epsilon, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química da UFSC. Os experimentos foram realizados em solução

de CH_2Cl_2 (complexo de cobre) e $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$ (1:1) (complexo de zinco) sob atmosfera de argônio a temperatura ambiente. Utilizou-se hexafluorofosfato de tetrabutilamônio ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) como eletrólito suporte e uma célula eletrolítica com três eletrodos: eletrodo de trabalho – platina; eletrodo auxiliar – fio de platina; eletrodo de referência – Ag/AgCl. Para correção do eletrodo de referência utilizou-se o par redox ferrocínio/ferroceno como padrão interno.¹⁸

3.1.2.6 Difratometria de Raios X

As análises de difração de raios X de monocrystal dos complexos foram realizadas pelo Prof. Dr. Adailton João Bortoluzzi na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC. Os dados do complexo de cobre(II) foram coletados em um difratômetro Enraf-Nonius CAD-4 equipado com um tubo de molibdênio ($\text{MoK}\alpha \lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) e monocromador de grafite à temperatura ambiente na central de análises da UFSC. Os dados do complexo de zinco(II) foram coletados pelo prof. Dr. Manfred Höner em um difratômetro Enraf-Nonius Kappa-CCD equipado com um tubo de molibdênio ($\text{MoK}\alpha \lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) e monocromador de grafite à temperatura ambiente na Universidade Federal de Santa Maria-RS. As estruturas cristalinas foram resolvidas através de métodos diretos com a utilização do programa SHELXS97¹⁹ e refinadas pelo método dos mínimos quadrados com matriz completa, com a utilização do programa SHELXL97²⁰. As representações gráficas das estruturas moleculares foram geradas utilizando o programa ORTEP.²¹

3.2 SÍNTESE DO LIGANTE

A rota sintética geral do ligante está resumida na Figura 7.

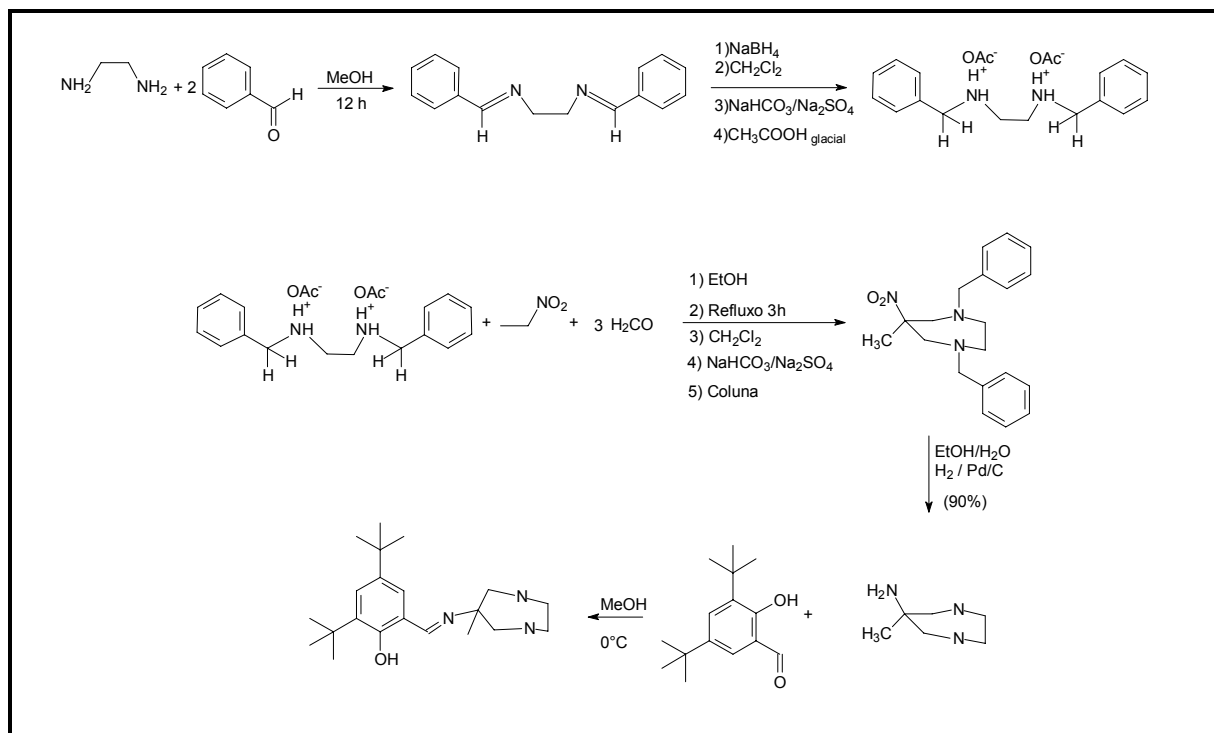
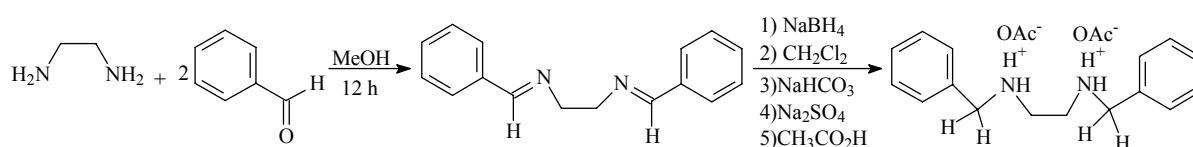


Figura 7 – Esquema geral de síntese do ligante Hdtbaaz.

3.2.1 SÍNTESE DOS PRECURSORES

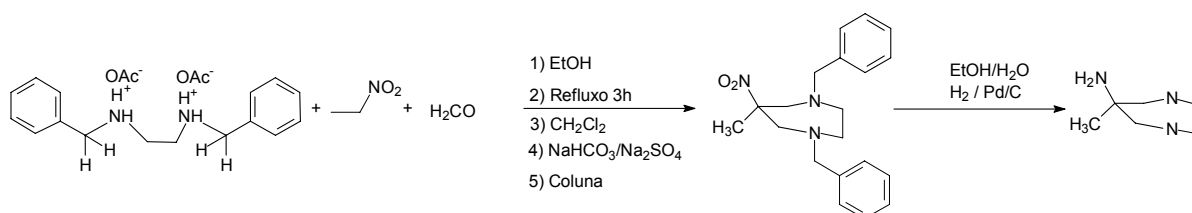
Nesta seção serão descritas as sínteses dos precursores N,N' -dibenzilethylenediamina e 6-Amino-6-metilperhidro-1,4-diazepina (aaz) que foram realizadas conforme procedimentos descritos na literatura.^{22, 23, 24}

3.2.1.1 Síntese do Acetato de N,N' -dibenzilethylenodiamina



Em um balão de fundo redondo, contendo uma solução metanólica de etilenodiamina (15,025 g, 0,25 mol, 16,88 mL), adicionou-se lentamente benzaldeído (53,06g, 0,5 mol, 10,2 mL) e manteve-se a mistura reacional sob refluxo e agitação por 12 horas, observando-se que a coloração amarela inicial tornou-se laranja escura. Decorrido esse tempo, desligou-se o aquecimento e após resfriar o sistema, adicionou-se lentamente NaBH_4 (9,46 g ; 0,25 mol), mantendo-se sob agitação por cerca de 2 h. O produto foi evaporado até securo, dissolvido em CH_2Cl_2 e lavado com uma solução aquosa saturada de Na_2CO_3 (8x50 mL). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro e filtrada. Sobre a fase orgânica gotejou-se ácido acético glacial (30,0 g; 0,5 mol; 28,57 mL), sob agitação e banho de gelo, resultando na formação de um precipitado branco correspondente ao composto acetato de *N,N'*-dibenziletilenodiamina. A solução foi filtrada a vácuo e o precipitado lavado com CH_2Cl_2 gelado e o sal resultante foi mantido em dessecador (P.F.115°C), rendimento: 62% (56,37 g, 156 mmol).

3.2.1.2 Síntese do 6-Amino-6-metilperhidro-1,4-diazepina



À uma solução etanólica contendo 9,2 g de Acetato de *N,N'*-dibenziletilenodiamina (25,5 mmol; 360,45 g.mol⁻¹), adicionaram-se, sob agitação, 1,83 mL de nitroetano (25,5 mmol; 1,045 g.mL⁻¹). Em seguida adicionaram-se, lentamente e sob agitação, 2,50 g de *p*-formaldeído (83,28 mmol; 30,03 g.mol⁻¹), formando uma suspensão que foi deixada sob refluxo durante 3 horas. Após este período, deixou-se a mistura reacional resfriar e o solvente foi rotaevaporado, obtendo-se um óleo o qual foi dissolvido em CH_2Cl_2 e lavado com solução aquosa saturada de NaHCO_3 (8x50 mL). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro, filtrada e o solvente foi removido até securo. O óleo marrom resultante foi purificado em coluna cromatográfica (sílica 70-230 mesh, eluente CH_2Cl_2) e novamente seco a

pressão reduzida. O produto purificado foi então dissolvido em uma mistura etanol/água (80 mL/10 mL) e, em seguida transferiu-se a solução para um recipiente apropriado, contendo 1,0 g de paládio/carbono 10%, que ficou sob atmosfera de hidrogênio a 40 psi e agitado durante 24 horas. A solução foi então separada do catalisador por filtração e o solvente foi retirado em rotaevaporador. Para eliminação completa do solvente, deixou-se o balão sob vácuo (0,1 mm Hg) por 12 horas. Foram obtidos 2,07g de (aaz), com rendimento de 64 %. O aaz foi caracterizado por IV (Figura 8) e RMN¹H (Figura 9).

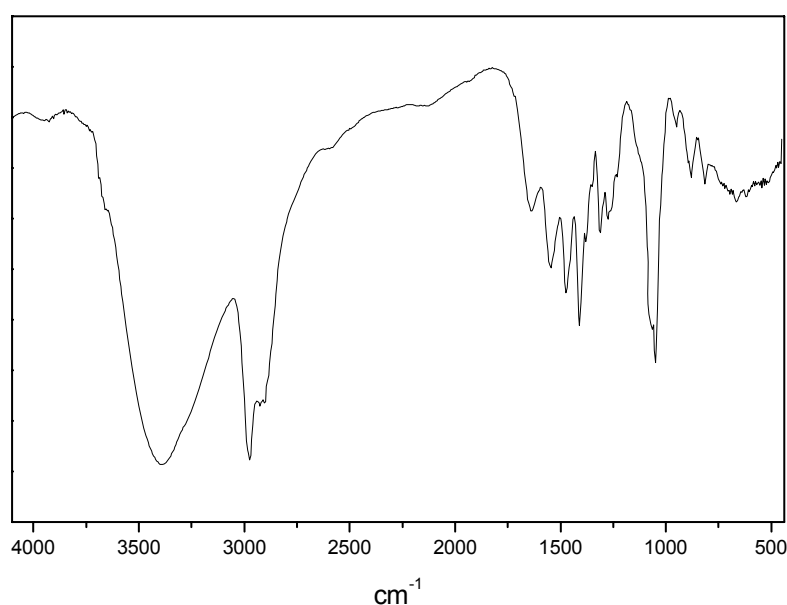


Figura 8 – Espectro no infravermelho do precursor aaz em KBr.

IV (KBr), em cm^{-1} : $\nu(\text{N-H})$ 3333; $\nu(\text{C-H})$ 2929; $\delta_s(\text{N-H})$ 1595; $\delta_s(\text{C-H})$ 1456; $\nu(\text{C-N})$ 1315-1115 , $\omega(\text{N-H})$ 902-743 em cm^{-1}

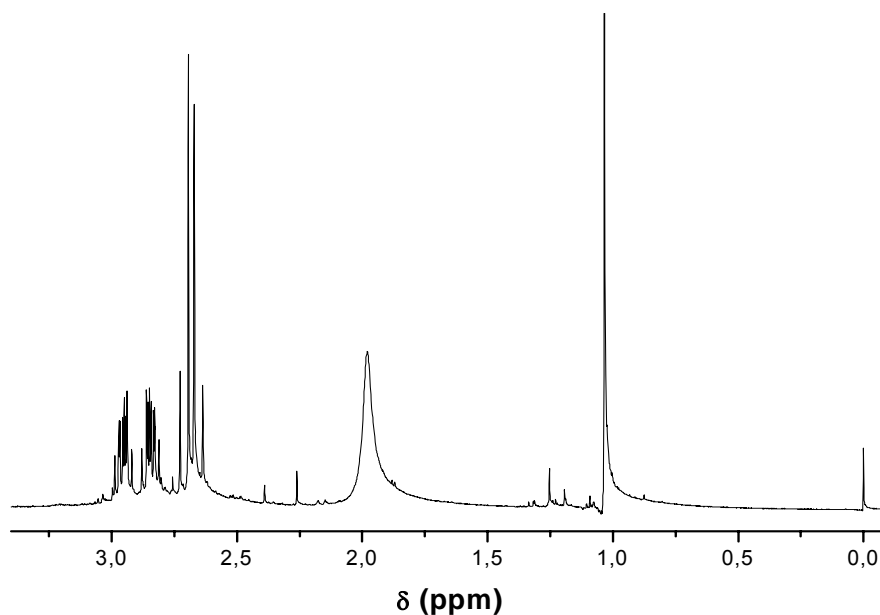
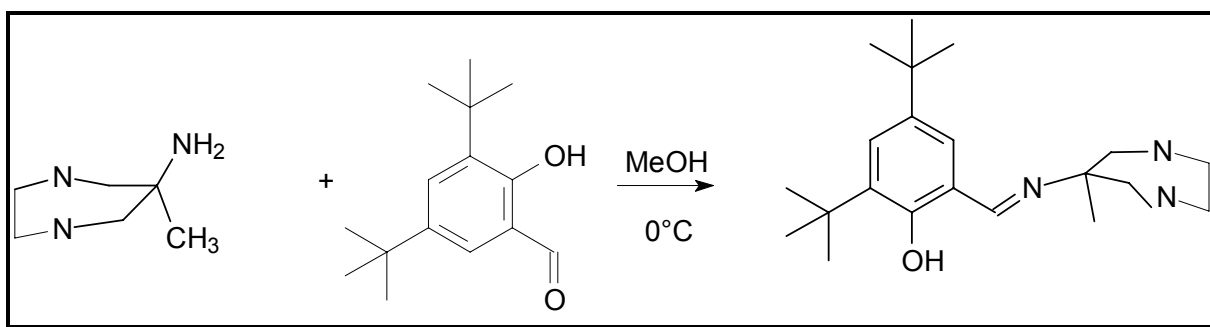


Figura 9 – Espectro de RMN ^1H do precursor aaz em CDCl_3 .

RMN ^1H – 1,04 (s, 3H); 1,98 (4H, NH); 2,69 (dd, 4H); 2,84 (m, 2H); 2,97 (m, 2H).

3.2.2 SÍNTESE DO LIGANTE 2,4-DI-TERC-BUTIL-6-((METIL-1,4-DIAZEPAN-6-ILIMINO)METIL)FENOL - Hdtbaaz



Em um balão de 125 mL foram dissolvidos 0,55 g (4,26 mmol; $129,21 \text{ g.mol}^{-1}$) de aaz em 50 mL de metanol. À esta solução adicionaram-se, gradativamente e sob banho de gelo, 1,0 g (4,26 mmol; $234,33 \text{ g.mol}^{-1}$) do 3,5-di-*terc*-butil-2-hidroxibenzaldeído formando uma suspensão amarela. Após 12 horas de agitação, a solução foi filtrada e o precipitado foi deixado em dessecador. Foram obtidos 0,85 g de Hdtbaaz, com rendimento de 58%. P.F. 173° C . O ligante foi caracterizado por IV (Figura 10) e RMN ^1H (Figura 11).

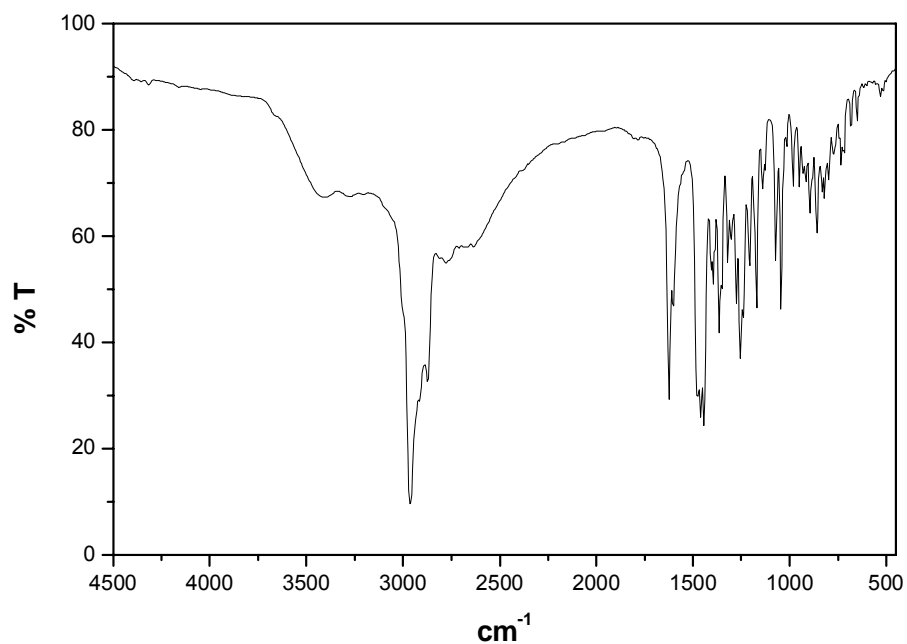


Figura 10 – Espectro no infravermelho do ligante Hdtbaaz em KBr.

IV (KBr), em cm^{-1} : $\nu(\text{C-H})$ 2959-2869; $\nu(\text{C=N})$ 1621 cm^{-1} ; $\nu(\text{C=C})_{\text{Ar}}$ 1439.

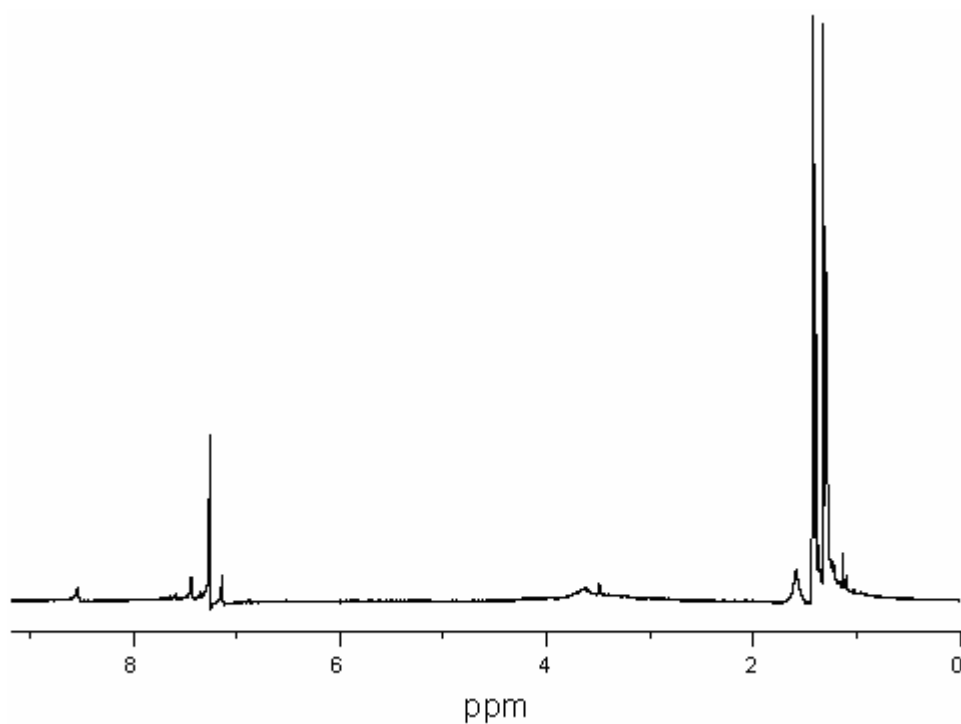
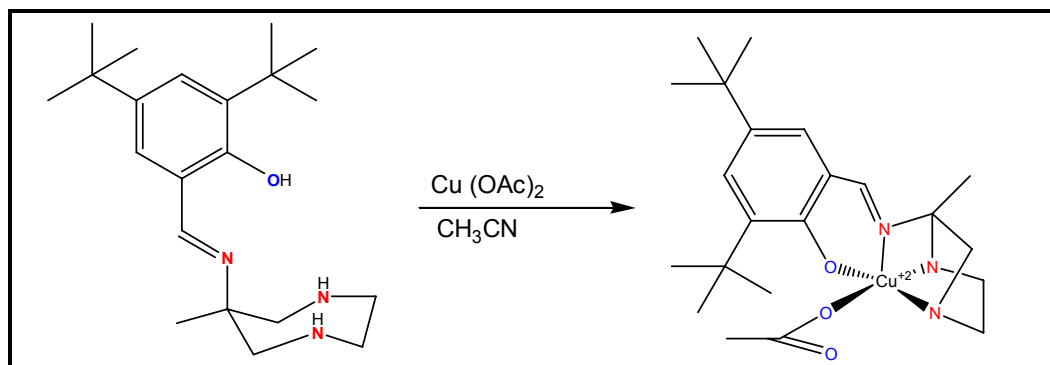


Figura 11 – Espectro de RMN ^1H do ligante Hdtbaaz em CDCl_3 .

3.2.3 SÍNTESE DO COMPLEXO Cu(dtbaaz)(OAc)



O complexo Cu(dtbaaz)(OAc) foi sintetizado adicionando-se a uma solução em acetonitrila contendo 0,5 mmol de Cu(OAc)₂.H₂O, 0,5 mmol do ligante Htbaaz, formando-se então uma solução de coloração verde. Após um dia, foram obtidos monocristais adequados à resolução da estrutura cristalina por difratometria de raios X. O rendimento obtido foi de 55%. O complexo Cu(dtbaaz)(OAc) foi caracterizado por infravermelho (Figura 12).

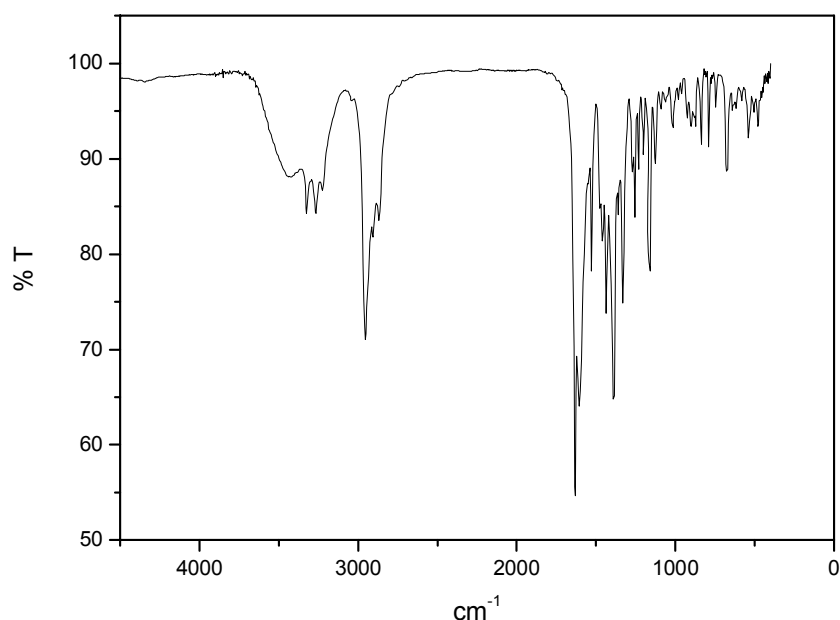


Figura 12 – Espectro no infravermelho do complexo em pastilha de KBr.

IV (KBr), em cm⁻¹: $\nu(\text{C-H})$ 2955-2868; $\nu(\text{C=N})$ 1633; $\nu(\text{C=C})_{\text{Ar}}$ 1434. $\nu(\text{C=O})_{\text{OAc}}$ 1605; $\nu(\text{N-H})$ 3324-3267.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LIGANTE Hdtbaaz

4.1.1 INFRAVERMELHO

A reação de formação do ligante Hdtbaaz se dá através do ataque nucleofílico da amina primária do aaz sobre o carbono carbonílico do aldeído. Para uma caracterização inicial do produto realizou-se a análise de espectroscopia na região do infravermelho. A técnica apesar de ser rápida e de baixo custo pôde fornecer informações úteis para a caracterização do composto, evidenciando a reação entre os reagentes de partida.

O espectro obtido para o ligante revelou uma banda característica que confirma a formação da ligação N=C $\nu(\text{C}=\text{N} - 1621 \text{ cm}^{-1})$. Outras bandas de relevância – $2959\text{-}2869 \text{ cm}^{-1} \nu(\text{C-H})$ típicas dos grupos *terc*-butil e $1439 \text{ cm}^{-1} (\nu\text{C}=\text{C})$ típicas de anel aromático – também podem ser observadas no espectro.

4.1.2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO RMN ^1H

O espectro de RMN ^1H do ligante (em CDCl_3) apresentou os deslocamentos químicos típicos dos grupos presentes na molécula. A incoerência na integração dos picos sugeriu que o composto decompunha-se aos reagentes de partida por simples dissolução. A suposição foi confirmada realizando-se análises periódicas e observando que um pico atribuído ao ligante – singleto em 8,54 ppm - ficava menos intenso enquanto que outro pico, característico do precursor Hdtba – singleto em 9,87 ppm - se intensificava com o tempo.

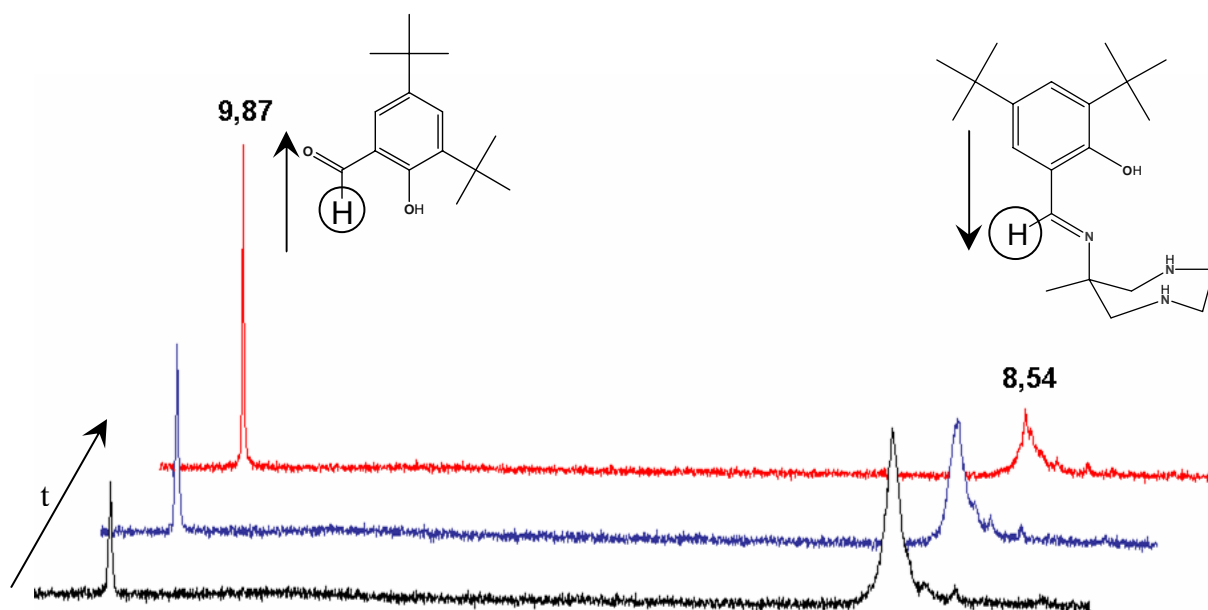


Figura 13 Espectro do ligante Hdtbaaz em 5, 15 e 60 minutos, (preto), (azul) e (vermelho) respectivamente. Deslocamento químico em 8,54 ppm (imina) e 9,87 ppm (aldeído) com os picos ampliados.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO Cu(dtbaaz)(OAc)

Nesta seção serão apresentadas as caracterizações referentes ao complexo Cu(dtbaaz)(OAc). Outro complexo de Cobre(II) foi sintetizado paralelamente com estrutura similar, no entanto contendo um íon cloreto substituindo o íon acetato coordenado ao centro metálico.²⁵ A síntese e as caracterizações do complexo CuII(dtbaaz)(Cl) serão omitidas neste trabalho por coincidirem em grande parte com às do complexo contendo o íon acetato e para se manter a concisão do mesmo.

4.2.1 INFRAVERMELHO

O espectro do complexo apresenta características importantes quando comparado ao do ligante. A banda de absorção $\nu\text{C}=\text{N}$ é mantida com um pequeno deslocamento para 1633 cm^{-1} . Além disto, pode-se observar o desaparecimento de uma banda larga na região de 3400 cm^{-1} ($\nu\text{O}-\text{H}$) devido à desprotonação do fenol na complexação. O desaparecimento desta banda alargada permite a visualização de

um dublete na região de 3400 cm^{-1} que pode ser atribuído à deformação axial das ligações N-H presentes no ligante.

Outras duas bandas ($\nu\text{C=O } 1605\text{ cm}^{-1}$ e $\nu\text{C-O } 1390\text{ cm}^{-1}$) são observadas no espectro do complexo e podem ser atribuídas ao íon acetato coordenado ao centro de cobre. Estas informações estão de acordo com a estrutura obtida para o complexo no qual um ânion acetato (equatorial) está coordenado ao centro metálico.

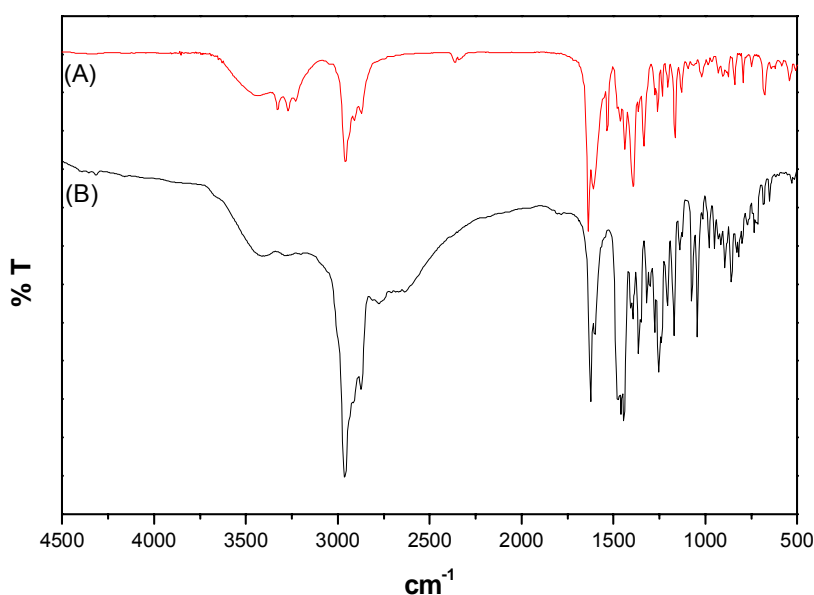


Figura 14 – Espectro da ligante (preto) e do complexo (vermelho)

4.2.2 ESTRUTURA CRISTALINA DE RAIOS X

A estrutura do complexo foi obtida a partir de difração em monocristais segundo a técnica de cristalografia de raios X. A cela unitária do cristal apresentou duas moléculas com pequenas diferenças nos ângulos e comprimentos de ligação. A Figura 14 mostra o diagrama ORTEP²¹ para uma das unidades da cela unitária. Os dados cristalográficos estão resumidos na Tabela 2 e as principais distâncias de ligação e ângulos para cada unidade da cela unitária são apresentadas na Tabela 3.

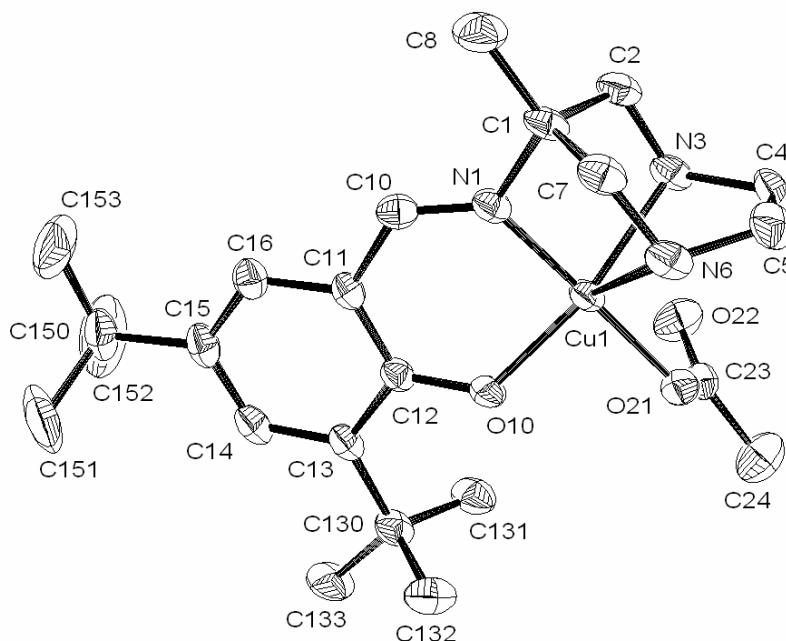


Figura 14 – Diagrama ORTEP²¹ do complexo Cu(dtbaaz)(OAc) com elipsóides mostrados em 40% de probabilidade.

Tabela 2 – Dados cristalográficos selecionados para o complexo Cu(dtbaaz)(OAc).

Fórmula empírica	C ₂₃ H ₃₇ Cu N ₃ O ₃	
Massa molecular	467.10	
Temperatura	293(2) K	
Comprimento de onda	0.71073 Å	
Sistema cristalino, grupo espacial	Triclinico, P1	
Dimensões da célula unitária	a = 10.320(2) Å	$\alpha = 104.650(10)^\circ$.
	b = 12.6590(10) Å	$\beta = 101.230(10)^\circ$.
	c = 20.785(2) Å	$\gamma = 98.810(10)^\circ$.
Volume	2517.5(6) Å ³	
Z	4	
Densidade (calculada)	1.232 Mg/m ³	
Coeficiente de absorção	0.894 mm ⁻¹	
Reflexões coletadas	9204	
Reflexões independentes	8935 [R(int) = 0.0482]	
Método de Refinamento	Mínimos quadrados com matriz completa F ²	

Tabela 3 - Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) selecionados para as duas unidades da cela unitária do complexo Cu(dtbaaz)(OAc).

Unidade (a)		Unidade (b)	
Cu1-O10	1,927	Cu2-O40	1,903
Cu1-O21	1,934	Cu2-O31	1,926
Cu1-N1	1,937	Cu2-51	1,939
Cu1-N3	2,070	Cu2-N33	2,049
Cu1-N6	2,447	Cu2-N36	2,658
N1-C10	1,288	N31-C40	1,267
O10-Cu1-O21	89,56	O40-Cu2-N31	91,75
O10-Cu1-N11	89,84	O40-Cu2-O51	89,62
O21-Cu1-N1	174,51	N31-Cu2-O51	170,58
O10-Cu1-N3	164,22	O40-Cu2-N33	162,75
O21-Cu1-N3	97,86	N31-Cu1-N33	85,04
N1-Cu1-N3	84,06	O51-Cu2-N33	96,32
O10-Cu1-N6	121,60	O40-Cu2-N36	127,16
O21-Cu1-N6	97,00	N31-Cu2-N36	76,76
N1-Cu1-N6	78,69	O51-Cu2-N36	95,01
N3-Cu1-N6	71,48	N33-Cu2-N36	68,57

Um cálculo estabelecido por Addison²⁶ e colaboradores possibilita a identificação da geometria de coordenação dos centros de cobre pentacoordenados. Através da equação $\tau = (\beta - \alpha) / 60$, onde β representa o maior ângulo e α o segundo maior ângulo na esfera de coordenação, verifica-se o grau de trigonalidade da geometria. Assim, quando $\tau = 0$ o centro pentacoordenado assume a geometria de pirâmide de base quadrada perfeita e quando $\tau = 1$, o centro adquire geometria de bipirâmide trigonal perfeita. No complexo, o centro de cobre está pentacoordenado mostrando geometria de pirâmide de base quadrada distorcida, como determinado pelo valor de τ (0,151), calculado a partir da média dos ângulos das duas unidades da cela cristalográfica.

Na estrutura determinada o átomo de cobre(II) está coordenado a três átomos de nitrogênio, um oxigênio fenólico e um ânion acetato exógeno, como o encontrado em uma das formas da galactose oxidase^{10, 27}. O nitrogênio imínico ocupa a posição equatorial com comprimento de ligação de 1,937 Å. A posição axial é ocupada por um dos nitrogênios amínicos e o comprimento de ligação é o maior encontrado na esfera de coordenação do metal, com 2,447 Å. O comprimento de ligação Cu^{II}-

O_{fenolato} é de 1,927 sendo muito próximo ao encontrado para a ligação $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-O}_{\text{tirosinato}}$ na estrutura da GAO.^{10, 27,28}

4.2.3 ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA

O espectro eletrônico do complexo $\text{Cu}(\text{dtbaaz})(\text{OAc})$ é apresentado na Figura 15, mostrando uma banda centrada em 617 nm ($\varepsilon = 167 \text{ L.mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) referente à banda $d\text{-}d$ do metal e outra banda em 384 nm ($\varepsilon = 4705 \text{ L.mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) atribuída à transferência de carga do tipo fenolato \rightarrow Cobre(II).

No complexo contendo o íon cloreto²⁵ coordenado o comprimento de onda na transição $d\text{-}d$ é 645 nm. A diminuição do comprimento de onda na transição $d\text{-}d$ de 645 pra 617 nm (e, portanto, o aumento da energia da transição) observado no complexo $\text{Cu}(\text{dtbaaz}).\text{OAc}$ deve-se atribuir ao aumento da força de campo ligante que o acetato exerce sobre o metal em relação a um cloreto, confirmando a configuração prevista. Esse deslocamento na energia de transição $d\text{-}d$ do íon cobre(II) é comum em outros complexos citados na literatura e está associado a variação do campo ligante nos complexos.²⁸

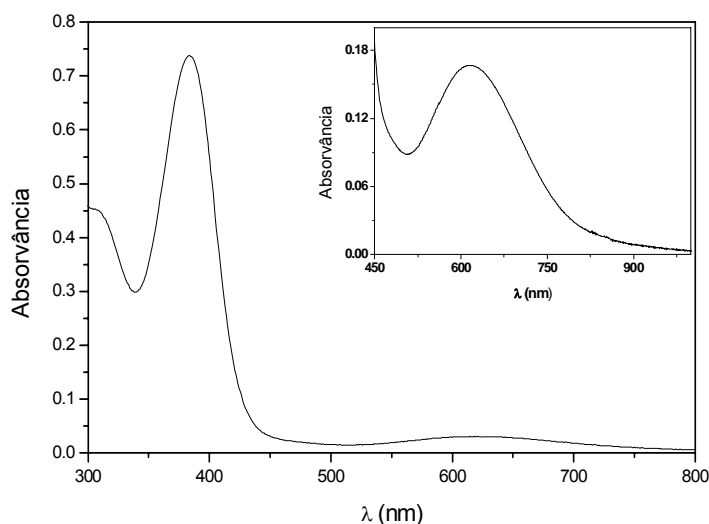


Figura 15 - Espectro eletrônico do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{dtbaaz}).\text{OAc}$ em CH_3CN ($1,5 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$) cubeta de vidro, com caminho ótico de 1 cm. Inserção: Ampliação da banda em 617 nm referente à transição do íon Cu^{II} ($1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$).

A banda em 384 nm está de acordo com os valores encontrados em outros complexos de cobre(II) com fenolato coordenado e também com a forma inativa da GAO. Em ambos os casos tem-se uma transferência de carga do tipo Cu^{II} -fenolato próximo a região de 400 nm com um elevado coeficiente de extinção molar.¹⁵

4.2.4 RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA

A estrutura da enzima na forma reduzida, azul, mostra um espectro de RPE típico para complexos de cobre(II) com geometria de pirâmide de base quadrada enquanto sua forma oxidada é silenciosa ao RPE, provavelmente devido ao acoplamento intramolecular antiferromagnético entre o íon cobre(II) (d^9) e o radical tirosil coordenado.

O espectro do complexo $\text{Cu}(\text{dtbaaz})\cdot\text{OAc}$ foi obtido tanto em solução como no estado sólido a temperatura ambiente e a 77K. O complexo exibe uma banda larga no espectro quando no estado sólido ou em solução de CH_2Cl_2 a 77K com um $g_{\text{iso}} = 2,10$ ($\Delta H = 190,0\text{G}$). Em contraste, a estrutura hiperfina pôde ser observada em CH_2Cl_2 a 298K e o espectro mostra um sinal axial, típico de complexos de cobre(II) pentacoordenados em geometria de pirâmide de base quadrada ($g_{\parallel} > g_{\perp} > 2,0$). Este resultado está em concordância com a geometria determinada por cristalografia de raios X. Os espectros são mostrados na Figura 16.

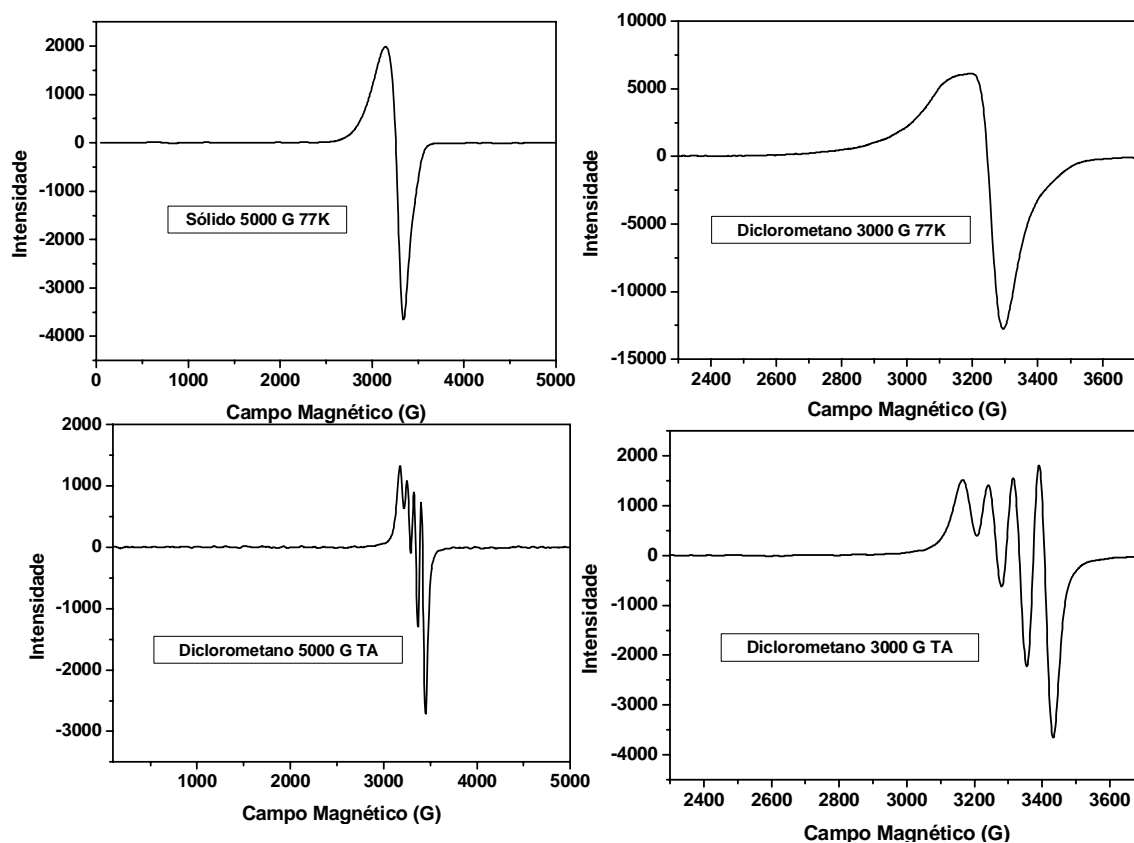


Figura 16 - Espectros de RPE em estado sólido e solução do complexo Cu(dtbaaz).OAc.

O complexo apresenta valores dos parâmetros de RPE condizentes com os encontrados na forma inativa da GAO²⁸ tendo em vista que a forma ativa da enzima é silenciosa no RPE, como explicado anteriormente.

4.2.5 ELETROQUÍMICA

As propriedades redox do complexo foram investigadas através da técnica de voltametria cíclica. O voltamograma é mostrado na figura 16, e apresentam duas ondas, com potenciais ($E_{1/2}$) de 942 mV e -1116 mV vs NHE, as quais podem ser atribuídas a formação de um radical fenoxil e ao par redox $\text{Cu}^{2+} + e \rightarrow \text{Cu}^+$, respectivamente. A onda *quasi*-reversível em 942 mV é consequência da estabilização do radical pelos grupos t-butil substituintes. Esse efeito é observado por Halfen¹⁵ e colaboradores em um trabalho que compara complexos com e sem o efeito dos grupos t-butil e a consequente estabilização do radical fenoxil.

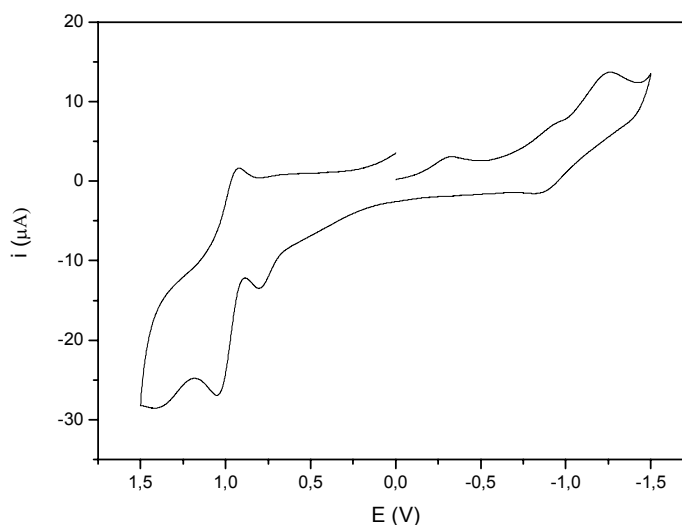


FIGURA 17 - Voltamograma cíclico do complexo $\text{Cu}(\text{dtbaaz})(\text{OAc})$, em CH_2Cl_2 , $[\text{TBA}(\text{PF}_6)]$ ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e ferroceno (Fc^+/Fc) como padrão interno. Eletrodos: trabalho- platina, referência- Ag/Ag^+ ; auxiliar-platina. Velocidade de varredura 300 mV.s^{-1} .

4.2.6 COULOMETRIA DO COMPLEXO E FORMAÇÃO DO RADICAL

A formação do radical fenoxil, que é imprescindível para modelos da enzima Galactose Oxidase, pode ser acompanhada pelo espectro UV/Vis do complexo em uma experiência de potencial controlado. Para verificar isto, realizou-se uma experiência com uma solução $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ do complexo $\text{Cu}(\text{dtbaaz})(\text{OAc})$ dissolvida em CH_2Cl_2 ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de TBAPF_6) a 273 K . Aplicou-se um potencial de 1200 mV por 75 minutos e não se observou, no entanto, a formação de nenhuma espécie radicalar estável.

O espectro de radicais fenoxil é bem conhecido^{13,15}, com uma banda em torno de 410 nm , e não se observou a formação de tal espécie, ao contrário, a banda de transferência de carga do complexo foi diminuindo e dando lugar às bandas em maiores energias (menor comprimento de onda) provenientes de transições internas do ligante, sugerindo que há decomposição do complexo no processo de eletrólise. Esta decomposição está de acordo com o fato de que o próprio ligante já se decompõe em solução e que não foi possível a obtenção de complexos de Zinco(II),

análogos ao de cobre(II), a partir do mesmo. Os espectros eletrônicos sucessivos obtidos durante a coulometria estão apresentados na Figura 18.

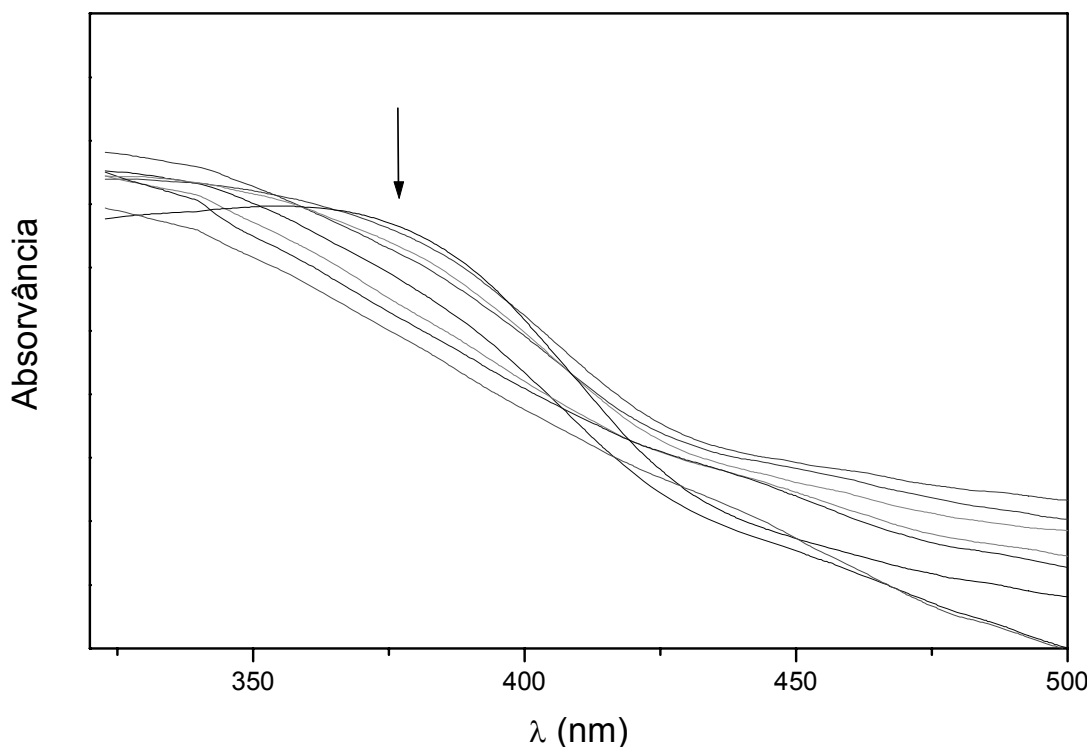


Figura 18 - Espectros UV/Vis em CH_2Cl_2 ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) obtidos durante a coulometria. A banda de transferência de carga do complexo diminui enquanto as de transferência interna do ligante aumentam.

Apesar de o complexo apresentar uma estrutura similar à encontrada no sítio ativo da GAO e de se observar, através da voltametria cíclica, a formação do radical fenoxil o complexo não pode ser considerado como modelo funcional para a Galactose Oxidase. A decomposição do complexo impede a estabilização do radical fenoxil formado, e consequentemente sua utilização na reação de oxidação de álcoois.

4.3 FORMAÇÃO DO COMPLEXO $\text{Zn}(\text{btbfd})_2$

Na tentativa de sintetizar complexos de zinco(II) análogos ao de cobre - a partir do ligante Hdtbaaz - obteve-se, por um caminho ainda não bem esclarecido, um complexo de coloração verde formado a partir do ligante 2,2'-metilenobis(6-*terc*-butil-4-metilenofenol), (btbfd). Um trabalho recente apresenta a utilização do ligante btbfd na formação de um complexo de tântalo(V)²⁹ com uma ligação carbono metal similar à encontrada no complexo $\text{Zn}(\text{btbfd})_2$.

Foram obtidos monocristais do complexo e a estrutura foi resolvida por difratometria de Raios X. Também foram realizadas análises do espectro UV/Vis e por voltametria cíclica.

4.3.1 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X

A partir dos monocristais verdes, obteve-se a estrutura do complexo. A representação gráfica da estrutura é apresentada na Figura 19. A Tabela 4 mostra os parâmetros cristalográficos resumidos para o complexo e a Tabela 5 os comprimentos e os ângulos de ligação selecionados. Todas as análises foram realizadas a 293K.

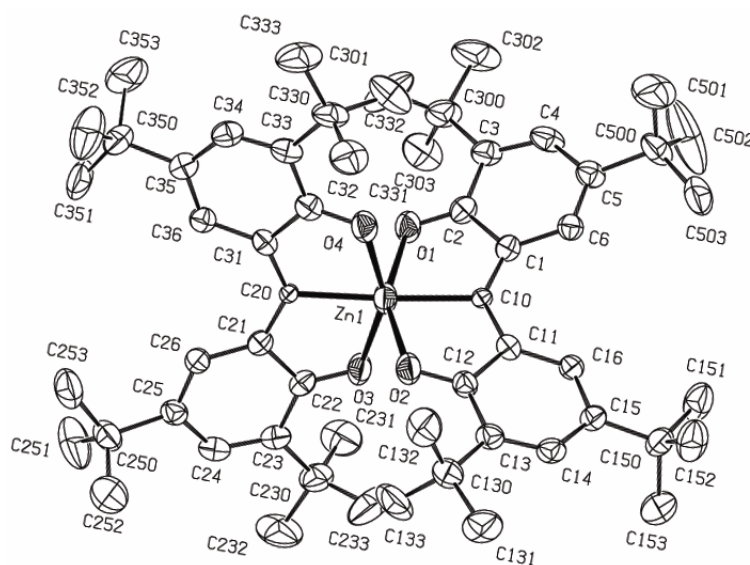


Figura 19 - Diagrama ORTEP²¹ do complexo $\text{Zn}(\text{btbfd})_2$ com elipsóides mostrados em 40% de probabilidade.

Tabela 4 – Dados cristalográficos selecionados par o complexo Zn(btbf₂)₂.

Fórmula empírica	C46.40 H64 O3.20 Zn0.80		
Massa molecular	725.27		
Temperatura	295(2) K		
Comprimento de onda	0.71073 Å		
Sistema cristalino,Grupo espacial	Ortorômbico, C 2 2 21		
Dimensões da célula unitária	a = 19.5728(6) Å	a= 90°.	
	b = 24.2828(6) Å	b= 90°.	
	c = 23.6918(5) Å	g = 90°.	
Volume	11260.3(5) Å3		
Z	10		
Densidade (calculada)	1.070 Mg/m3		
Coeficiente de absorção	0.477 mm-1		
Reflexões coletadas	46103		
Reflexões independentes	10193 [R(int) = 0.0522]		
Método de Refinamento	Mínimos quadrados com matriz completa F ²		

Tabela 5 - Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) selecionados para as duas unidades da cela unitária do complexo Zn(btbf₂)₂

Zn(1)-C(20)	2.075(2)	C(10)-Zn(1)-O(4)	102.57(9)
Zn(1)-C(10)	2.076(2)	O(2)-Zn(1)-O(4)	97.24(10)
Zn(1)-O(2)	2.118(2)	C(20)-Zn(1)-O(1)	100.39(9)
Zn(1)-O(4)	2.136(2)	C(10)-Zn(1)-O(1)	76.23(9)
Zn(1)-O(1)	2.148(2)	O(2)-Zn(1)-O(1)	153.32(8)
Zn(1)-O(3)	2.151(2)	O(4)-Zn(1)-O(1)	88.55(10)
O(1)-C(2)	1.243(4)	C(20)-Zn(1)-O(3)	76.36(8)
O(2)-C(12)	1.263(4)	C(10)-Zn(1)-O(3)	104.55(9)
O(3)-C(22)	1.258(4)	O(2)-Zn(1)-O(3)	89.40(10)
O(4)-C(32)	1.270(4)	O(4)-Zn(1)-O(3)	152.88(8)
C(10)-C(1)	1.324(4)	O(1)-Zn(1)-O(3)	97.24(10)
C(10)-C(11)	1.335(4)	C(2)-O(1)-Zn(1)	112.31(19)
C(20)-C(31)	1.333(4)	C(12)-O(2)-Zn(1)	112.90(18)
C(20)-C(21)	1.338(4)	C(22)-O(3)-Zn(1)	111.8(2)
		C(32)-O(4)-Zn(1)	111.98(19)
		C(1)-C(10)-C(11)	129.5(3)
C(20)-Zn(1)-C(10)	176.56(10)	C(1)-C(10)-Zn(1)	115.46(19)
C(20)-Zn(1)-O(2)	106.29(9)	C(11)-C(10)-Zn(1)	114.92(19)
C(10)-Zn(1)-O(2)	77.09(9)	C(31)-C(20)-C(21)	129.8(3)
C(20)-Zn(1)-O(4)	76.53(9)	C(31)-C(20)-Zn(1)	114.92(18)
		C(21)-C(20)-Zn(1)	115.26(19)

Nesta estrutura o zinco está coordenado em uma geometria octaédrica aos dois ligantes em posição facial. Em cada ligante, há um carbeno ligado ao centro metálico à uma distância de 2,07 Å. Os comprimentos de ligação carbono-oxigênio são intermediários entre fenol e quinona, o que pode-se mostrar também pela assimetria das ligações nos anéis aromáticos.

Devido à ausência de contra-íon na estrutura, é necessário considerar a formação de um radical livre em cada ligante para o balanço de cargas ser respeitado. Esta suposição é reforçada por outras análises feitas no complexo (apresentadas a seguir).

4.3.2 ELETROQUÍMICA

O comportamento eletroquímico do complexo foi estudado em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$ (50%) à temperatura ambiente em uma solução $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de TBAPF_6 . Os eletrodos utilizados foram o de Pt para trabalho e contra eletrodo e Ag/Ag^+ como eletrodo de referência. O complexo exibe potenciais de oxidação em 1000 e 750 mV vs NHE e um par *quasi* reversível em -550 mV vs NHE que podem ser relacionados com os processos redox do radical fenoxil. O gráfico obtido da voltametria cíclica está mostrado na Figura 20.

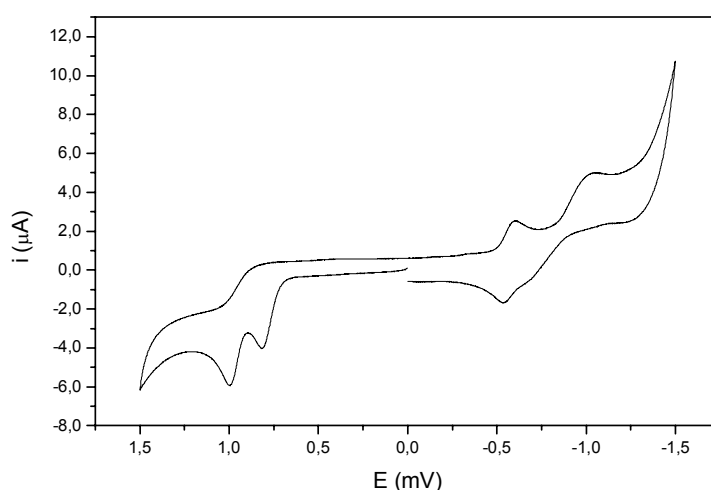


Figura 20 - Voltamograma cíclico do complexo $\text{Zn}(\text{btbfid})_2$, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$ (1:1), $[\text{TBA}(\text{PF}_6)]$ ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e ferroceno (Fc^+/Fc) como padrão interno. Eletrodos: trabalho- platina, referência- Ag/Ag^+ ; auxiliar-platina. Velocidade de varredura 100 mV.s^{-1} .

4.3.3 ESPECTRO ELETRÔNICO UV/VIS

O espectro na região UV/Vis foi obtido para o complexo em diclorometano à temperatura ambiente (Figura 21).

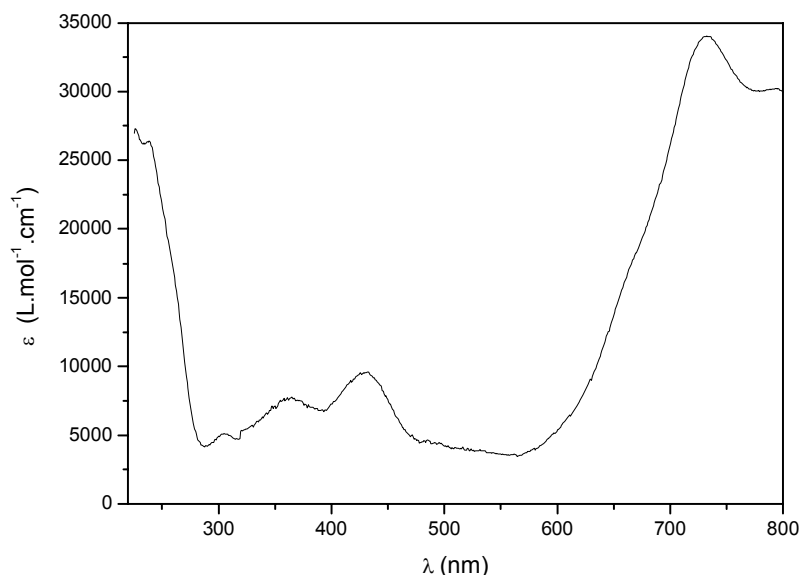


Figura 21 - Espectro eletrônico do complexo $\text{Zn}(\text{btbfD})_2$ em CH_2Cl_2 ($2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) cubeta de vidro, com caminho ótico de 1 cm.

As bandas principais e os valores do ϵ para cada transição (Tabela 6) mostram claramente um sistema eletrônico não usual, muito menos para um complexo de zinco. Esse é um dos principais argumentos a favor da molécula ser, de fato, um radical livre permanente. Bandas similares são encontradas em outros complexos reportados como modelo para a GAO bem como na própria enzima.^{15,28}

Tabela 6 – Dados da espectroscopia eletrônica para o complexo $\text{Zn}(\text{btbfD})_2$

λ (nm)	ϵ ($\text{L.mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
365	7750
431	9560
732	34056

Este complexo é de grande importância devido à sua estrutura eletrônica bem fora do comum. Sua obtenção abre perspectivas para que o mesmo possa ser

utilizado futuramente como sonda, já que é um radical livre estável, e também na contribuição para elucidar ainda mais o comportamento eletrônico de radicais livres. Atualmente o processo de síntese ainda está em fase de estudo e os rendimentos em geral são muito baixos. Espera-se aumentar o rendimento para continuar as análises com medidas magnéticas e de RMN, entre outras.

5 CONCLUSÕES

- ✓ Foi sintetizado e caracterizado por espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio o novo ligante Hdtbaaz.
- ✓ Análises de RMN ao longo do tempo mostraram que o ligante se decompõe aos reagentes de partida por simples dissolução, indicando um equilíbrio da espécie em solução.
- ✓ Foi sintetizado e caracterizado por difratometria de raios X, espectroscopias UV-Vis e infravermelho, ressonância paramagnética eletrônica e eletroquímica o novo complexo de cobre(II) obtido a partir do ligante Hdtbaaz.
- ✓ A análise do espectro eletrônico do complexo Cu(dtbaaz)(OAc) em uma experiência de potencial controlado revelou que o complexo se decompõe no processo de eletrólise não sendo possível assim a estabilização de um radical fenoxil. Desta forma o complexo não pode ser considerado como modelo funcional para a enzima galactose oxidase.
- ✓ Tentativas de sintetizar um complexo de zinco análogo ao de cobre resultaram na formação de um novo complexo mononuclear de zinco(II) de coloração verde intenso. As análises da estrutura de raios X, dos voltamogramas cíclicos e do espectro eletrônico UV/VIS do complexo mostraram tratar-se de uma espécie radicalar estável.

6 PERSPECTIVAS

O complexo de cobre formado, apesar de apresentar semelhanças estruturais com o sítio ativo da GAO, não pôde ser considerado como modelo funcional para a mesma devido a sua instabilidade frente à tentativa de formação de um radical fenoxil. Esta instabilidade está de acordo com o fato de o próprio ligante se decompor em solução. Novos estudos com substituintes no ligante podem ser realizados na tentativa de estabilizar a molécula e se obter novos complexos capazes de biomimetizar o sítio ativo da GAO.

O caminho pelo qual foi formado o complexo radicalar de zinco ainda não está bem definido e os rendimentos ainda são baixos. Novas rotas estão em estudo para que se possam aumentar os rendimentos e executar novas análises como medida magnética e RMN, entre outras.

A estrutura do complexo $\text{Zn}(\text{btbfd})_2$ é bem pouco comum com dois átomos de carbono coordenados ao centro metálico. O complexo apresenta-se como um (bi)radical livre permanente tornando-o uma potencial sonda para vários tipos de análises. A estabilidade do radical formado conduz a novos estudos que possam colaborar para a elucidação das características e mecanismos dos radicais livres.

7 REFERÊNCIAS

1. LIPPARD, S. J., BERG, J. M. Principles of Bioinorganic Chemistry, Mill Valley, California, 1994.
2. BERTINI, I., GRAY, H. B., LIPPARD, S. J., VALENTINE, J. S. Bioinorganic Chemistry, University Science Books, California, 1994.
3. FENTON, D. E., Biocoordination Chemistry, New York, Oxford Chemistry Primers, 1995.
4. BERG, J. M., TYMOCZKO, J. L., STRYER, L. Biochemistry, New York: W. H. Freeman and Company, 5th edition, p. 189-221, 2001
5. GAMEZ, P., KOVAL, I. A., REEDJIK, J. Bio-mimicking galactose oxidase and hemocyanin, two dioxygen-processing copper proteins. Dalton trans, p 4079 – 4088, 2004
6. WHITTAKER, M. M., WHITTAKER, J. W. The active site of galactose oxidase. Journal of Biol. Chem, v. 263, p.6074, 1988.
7. WHITTAKER, M. M., CHUANG, Y-Y., WHITTAKER, J. W. Models for the redox active site in galactose oxidase, Journal of the American Chemical Society, v. 115, p.10029, 1993.
8. KLINMAN, J. P. Mechanisms Whereby Mononuclear Copper Proteins Functionalize Organic Substrates. Chem. Rev, v. 96, p 2541, 1996.
9. KELLEHER, F. M., BHAVANANDAN, V. P. Re-examination of the products of the action of galactose oxidase. Evidence for the conversion of raffinose to 6"-carboxyraffinose. J. Biol. Chem., v.261, p.11045-11048, 1986.
10. ITO, N., PHILIPS, S. E. V., STEVENS, C., OGEL, Z. B., MCPHERSON, M. J., KEEN, J. N., YADAV, K. D. S., KNOWLES, P. F. Novel thioether bond revealed by a 1.7 Å crystal structure of galactose oxidase. Letters to Nature, v.350, p. 87-90, 1991.
11. WHITTAKER, J. W. The radical chemistry of galactose oxidase. Arch. Biochem. And Biophys., v. 433, p. 227-239, 2005.
12. ALTIWICKER, E. R. The Chemistry of Stable Phenoxy Radicals, Chem. Rev, v. 67, p. 475–531, 1967.
13. THOMAS, F., JARJAYES, O., DUBOC, C., PHILOUZE, C., SAINT-AMAN, E., PIERRE, J.-L. Intramolecularly hydrogen-bonded versus copper(II)

- coordinated mono- and bis-phenoxyl radicals, *Dalton Trans.*, p. 2662–2669, 2004.
14. DOS ANJOS, A. BORTOLUZZI, A.J., OSORIO, R.E.H.M.B., PERALTA, R.A., FRIEDERMANN, G. R., MANGRICH, A.S., NEVES, A. *Inorg. Chem. Commun.* v.8, p. 249–253, 2004.
 15. HALFEN, J.A., JAZDZEWSKI, B. A., TOLMAN, W. B. et. al. Synthetic models of the inactive copper (II)-tyrosinate and active copper (II)-tyrosyl radical forms of galactose and glyoxal oxidases. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 119, p 8217-8227, 1997.
 16. SHRIVER, D. F., ATKINS, P. W. *Química Inorgânica*, 3ª edição, editora Bookman, p.694(816) 2003.
 17. BRUKER EPR. WIN-EPR e Simfonia: post-processing program and simulation software for PC-Windows or CD-Rom , version1.0, 1997.
 18. GAGNÉ, R. R., KOVAL, C. A. and LISENSKY, G. C. Ferrocene as an internal standard for electrochemical measurements. *Inorganic Chemistry*, v. 19, p. 2854-2855, 1980.
 19. SHELDRICK, G. M. SHELXS-97: program for the solution of crystal structures. University of Göttingen, Germany, 1990.
 20. SHELDRICK, G. M. SHELXL-97: program for the refinement of crystal structures. University of Göttingen, Germany, 1997.
 21. FARRUGIA, L. J. ORTEP3 for Windows. *Journal of Applied Crystallography*, v. 30, p. 565, 1997.
 22. AIME, SILVIO; CALABI, LUISELLA; CAVALLOTTI, CAMILLA; GIANOLIO, ELIANA; GIOVENZANA, GIOVANNI B.; LOSI, PIETRO; MAIOCCHI, ALESSANDRO; PALMISANO, GIOVANNI; SISTI, MASSIMO. [Gd-AAZTA]-: A New Structural Entry for an Improved Generation of MRI Contrast Agents. *Inorganic Chemistry*, v. 43(24), p. 7588-7590, 2004.
 23. AIME, S.; CALABI, L.; CAVALLOTTI, C.; GIOVENZANA, G. B.; PALMISANO, G.; SISTI, M. PCT Int. Patent Appl. WO0308390, 2003; *Chem. Abstr.* 2003, 138, 146684.
 24. PERALTA, R. A.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A. J.; CASELLATO, A.; DOS ANJOS, A.; GREATTI, A.; XAVIER, F. R.; SZPOGANICZ, B. First-Transition-Metal Complexs Containing The Ligand 6-Amino-6-methylperhidro-1,4-diazepine(AAZ) And New Functionalized Derivate: Can AAZ Act as Mimetic

- Ligand for 1,4,7-triazacyclononane? Inorganic Chemistry, v.44, p.7690-7692, 2005.
25. PASSOS, F.; PERALTA, R. A.; ANJOS, A.; NEVES, A. Síntese e Caracterização de um novo complexo mononuclear de cobre(II): Modelo para Galactose Oxidase. 13° Encontro de Química da Região Sul, Florianópolis. 2005
26. ADDISON, A. W.; RAO, T. N.; REEDIJK, J.; VANRIJN, J., VERSCHOOR, G. C. Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen-sulfur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua[1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions, p. 1349-1356, 1984.
27. ITO, N., PHILLIPS, S. E. V., YADAV, K. D. S., KNOWLES, P. F. Crystal Structure of a Free Radical Enzyme, Galactose Oxidase. J. Mol. Biol., v. 238, p. 794-814, 1994.
28. ANJOS, A., Novos complexos metalo-radicalares de relevância bioinorgânica: 1) modelos biomiméticos para a enzima galactose oxidase, 2) modelos complexos metalo-fenoxil, Tese de Doutorado em Química – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.
29. WATANABE, T., MATSUO, T., KAWAGUCHI, H. A Tantalum(V) Carbene Complex: Formation of a Carbene-Bis(phenoxide) Ligand by Sequential Proton and Hydride Abstraction. Inorganic Chemistry, v. 45(17), p. 6580 - 6582, 2006.